T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI FONKSİYONEL GRUPLARI TAŞIYAN *P-TER* BÜTİLKALİKS[4]AREN NANOFİBERLERİNİN CACO-2 KOLON KANSERİ HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

MOHAMMED FARMAN AHMED AHMED

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nanoteknoloji ve İleri Malzemeler Anabilim Dalı

Mayıs-2018
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

YÜKSEK LİSANS

FARKLI FONKSİYONEL GRUPLARI TAŞIYAN *P-TER* BÜTİLKALİKS[4]AREN NANOFİBERLERİNİN CACO-2 KOLON KANSERİ HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Mohammed farman ahmed AHMED

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Nanoteknoloji ve İleri Malzemeler Anabilim Dalı

Danışman: Doç.Dr.Şeref ERTUL
Yardımcı Danışman: Dr.Öğr.Üyesi. Pembegül UYAR ARPACI
2018, 94 sayfa

Jüri
Danışmanın :Doç.Dr.Şeref ERTUL
Doç. Dr.Mevlüt BAYRAKÇI
Doç. Dr.İmren HATAY PATIR

Bu tez çalışmasında Nitril (-CN), Amin ($-NH_2$), Karboksilik asit (-COOH) ve Alkil Bromür (-Br) taşıyan *p-ter*-bütilkaliks[4]aren molekülleri uygun reaksiyon şartlarında sentezlendi ve bu sentezlenen *p-ter*–bütilkaliks[4]aren türevlerinin elektrospin yöntemi ile nanofiberleri oluşturuldu. Sentezlenen bu makrosiklik bileşiklerin yapıları spektroskopik teknikler (FTIR, ^{1}H-NMR), nanofiberin yüzey analizleri SEM, tekniği kullanılarak aydınlatıldı. Yüzeylerine Caco-2 hücresi $15x10^4$ olacak şekilde sayılarak ekilen Nitril (-CN), Amin ($-NH_2$), Karboksilik asit (-COOH) ve Alkil Bromür (-Br)) taşıyan *p-ter*-bütilkaliks[4]aren nanofiber numuneleri 72 saat inkübasyon sonrasında nanofiberler çekilerek yeni 24 kuyucuklu plakaya aktarılarak kuyucuklara 500 mikrolitre DMEM ve 250 mikrolitre XTT (2,3-Bis-(2-Methoxy-4-Nitro-5-Sulfophenyl)-2H-Tetrazolium-5-Carboxanilide)(Biological Industries) olacak şekilde eklendi. XTT eklendikten 5 saat sonra 24 kuyucukların bir kısmı XTT analizi için 96 kuyucuklara aktarılıp diğer kısmı ise tamponu uzaklaştırıldıktan sonra 2 kez steril distile su ile yıkanılıp son steril distile su çekilerek -80 °C'ye 1 gece bekletilmek üzere derin dondurucuya konulmıştır. Ertesi gün -110 °C' ye kadar soğutan liyofilizatörde 1 gece boyunca dondurulup kurutulmuştur. Kurutulan numuneler üzerindeki hücreler SEM analizi öncesi numunenin 5 nm AuPd ile kaplanması sağlanmıştır. Daha sonra SEM'de incelenerek yüzeyde tutunup çoğalan hücreler (100X, 5000X, 1000X, 2000X, 5000X, 10000X) büyütmelerde görüntülendi.

Anahtar Kelimeler : Caco-2 Hücre Hattı**,** Elektrospin, Kaliksaren, Nanofiber, 3B-Hücre Kültürü

ABSTRACT

MS THESIS

İNVESTİGATİON OF THE EFFECT OF P-TER-BUTYLCALİX[4]ARENE NANOFIBERS CATTYING DIFFERENT FUNCT'ONALGROUPS ON COCA-2 COLON CANSER CELLS

Mohammed Farman Ahmed AHMED

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN NANOTECHNOLOGY AND ADVANCED MATERIALS

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Şeref ERTUL
Co-Advisor: Prof. Dr. Pembegül UYAR ARPACI
2018, 94 pages

Jury
Advisor .Prof.Dr.Şeref ERTUL
Assoc Asst. Prof. Dr. Mevlüt BAYRAKÇI
Asst. Prof. Dr.İmren HATAY PATIR

In the present study, molecules of p-tert-butylcycles [4] arene bearing Nitrile (-CN), Amine (-NH2), Carboxylic acid (-COOH) and Alkyl Bromide (-Br) were synthesized under suitable reaction condition and the synthesized p- butylcarlix [4] aren derivatives were formed by electrospinning method. Structures of these synthesized macrocyclic compounds were characterized by spectroscopic techniques (FTIR, 1 H-NMR), nanofiber structure analysis SEM technique. Samples of p-tert-butylcarboxy [4] arene nanofibers bearing Nitril (-CN), Amine (-NH2), Carboxylic acid (-COOH) and Alkyl Bromide (-Br), counted as Caco-2 cells 15x104, After incubation, the nanofibers were withdrawn and transferred to new 24-well plates and 500 µL of DMEM and 250 µL of XTT (2,3-Bis- (2-Methoxy-4-Nitro-5-Sulfophenyl) -2H-Tetrazolium-5-Carboxanilide) (Biological Industries) were be added. After 5 hours of XTT being added, some of the 24 wells are transferred to 96 wells for XTT analysis and the other part were removed from the buffer, then washed twice with sterile distilled water and the final sterile distilled water is added to the freezer for 1 night at -80 ^{o}C. The next day, it was frozen and dried overnight in a lyophilizer cooled to -110 °C. The cells on the dried specimens were coated with 5 nm AuPd before the SEM analysis. Subsequently, the cells were observed by SEM and enlarged (100X, 5000X, 1000X, 2000X, 5000X, 10000X).

Keywords : Caco-2 Cell Line, Calixarene, Electrospinning, Nanofiber, 3D-Cell Culture

ÖNSÖZ

Hayatımın her anında sonsuz sevgi ve destekleri ile yanımda olan aileme,

Bu tez çalışmasında, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi nanoteknoloji bölümü öğretim üyesi **Doç. Dr. Şeref ERTUL ve Dr.Öğr.Üyesi.** Pembegül UYAR ARPACI danışmanlığında hazırlanarak, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne YÜKSEK LİSANS Tezi olarak sunulmuştur.

Çalışmalarımda bilgi, birikimiyle bana katkı sağlayan ve her şeyiyle bana destek olan saygıdeğer hocam, ağabeyim ve danışmanım **Doç. Dr. Şeref ERTUL** içten duygularımla teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans tezim boyunca yardımlarını benden hiç esirgemeyen, tezim için değerli vaktini ayıran ve laboratuar koşullarını sağlayan **Dr.Öğr.Üyesi. Pembegül UYAR ARPACI ya** teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında bana bilgi ve tecrübeleriyle ışık tutan, hiçbir konuda yardımları esirgemeyen, bana ekip ruhunu yaşatan, bilimsel ve hayat tecrübesi olarak çok şey katan Uzm. Dr. Fatih ÖZCAN hocama ve yüksek lisans çalışma arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bana tez deneylerimi yapmam sırasında yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Zuhair Nazar, Emine Gök, ve Müslüm Ağaç arkadaşlarıma,

Son olarak her daim yanımda olan hayatımdaki en değerli varlığım, sevgili babama , anneme ve kardeşlerime sonsuz sevgi, sabır ve destekleri için teşekkür ederim. Sevgili babam ve annem gurbet uzak olsa da sevginiz o kadar yakın ki bilmelisiniz ellerinizden öperim

Mohammed farman ahmed AHMED

KONYA-2018

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iv**

ABSTRACT ..... **v**

ÖNSÖZ ..... **vi**

İÇİNDEKİLER ..... **vii**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **xi**

1. GİRİŞ **1**

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **5**

2.1.SUPRAMOLEKÜLLER 5
2.1.1.KALİKSARENLER 6
2.1.1.1.Kaliksarenlerin isimlendirilmesi 7
2.1.1.2.Kaliksarenlerin sentezi 8
2.1.1.3.Kaliksarenlerin yapısal özellikleri 10
2.1.1.4.Kaliksarenlerin fonksiyonlandırılması 15
2.1.1.5.Kaliksarenlerin Fiziksel ve kimyasal Özellikleri 18
2.1.1.6.Kaliksarenlerin Kullanım Alanları 19
2.2.NANOTEKNOLOJİ 27
2.2.1.Nanoteknolojinin tarihsel gelişimi 28
2.2.2. Nanoteknoloji Kullanım Alanları 29
2.2.2.1. Yüzey uygulamalarında nanoteknoloji 29
2.3.NANOFİBERLER 31
2.3.1.Nanofiberlerin kullanım alanları. 31
2.3.2. Nanofiber üretim yöntemleri 34
2.3.2.1.Çizme yöntemi 34
2.3.2.2.Faz Ayırma 34
2.3.2.3.Elektrospin sistemi 35
2.4. KANSER 36
2.4.1.Kolorektal Kanserler 37
2.5.Hücre canlılığı testi 38
2.5.1.Trypan blue canlılık testi 38
2.5.2.XTT 38
2.5.3.Taramalı Elektron Mikroskobu - SEM (Scanning Electron Microscope) 38

3. MATERYAL VE YÖNTEM **40**

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler 40
3.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar 40
3.3. Kimyasal Sentezler 41
3.3.1.Farklı Fonksiyonel Uçlarasa sahip *p-ter*–bütilkaliks[4]arenler diester,Amin Alkil bromür,Nitril,Karboksilik asit bileşiklerinin Sentezi 41
3.4. Elektrospin yöntemi ile sentezlenen *p-ter*– bütil kaliks[4]aren bileşiklerinin (2-6) nanofiberlerinin üretimi 43

3.4.1.Nanolif Yüzey Sterilizasyonu 43
3.5.Biyolojik uyumluluk testleri-model uygulamaları 44
3.5.1.Caco-2 hücre hattı 44
3.5.2.Hücrelerin çözdürmesi 44
3.5.3.Hücrelerin üretilmesi ve pasajlanması 45
3.5.4.Caco-2 hücre hattının sayımı 47
3.5.5. Caco-2 hücre hattının sitotoksisite (XTT) Testi 47
3.5.6.Taramalı elektron mikroskobu için numune hazırlama 48
3.5.7.Caco-2 Hücrelerin Dondurulması 49

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA 51

4.1.5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren 51
4.2.5,11,17,23-Tetra-ter-bütil-25,27-dietoksikarbonilmetoksi-26,28-dihidroksi kaliks[4]aren 52
..... 53
4.3.5,11,17,23-Tetra-ter-bütil-25,27-dihidroksikarboksilik asit- 26,28-dihidroksi kaliks[4]aren 53
4.4.5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-disiyanometoksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren 55
4.5.5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-diaminoetoksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren .. 56
4.6.25,27-Bis(3-bromopropoksi)-26,28-dihidroksi-5,11,17,23-tetra*(ter-butil)* kaliks[4]aren 58
4.7.DE,CN, NH_2, COOH ve Br nün SEM analizleri 60
4.8. Hücrelerin Üretilmesi ve Pasajlanması 65
4.9. Nanofiber Yüzeylerin Caco-2 Hücre Hattına Proliferasyon Etkisinin İncelenmesi 66
4.10.Taramalı elektron mikroskobu (SEM)görüntüleri 68
4.10.1. 5,11,17,23-Tetra-ter-bütil-25,27-dietoksikarbonilmetoksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren 68
4.10.2. 5,11,17,23-Tetra-ter-bütil-25,27-dihidroksikarboksilik asit- 26,28-dihidroksi kaliks[4]aren 69
4.10.3.5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-disiyanometoksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren 70
4.10.4.5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-diaminoetoksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren 71
4.10.5.25,27-Bis(3-bromopropoksi)- 26,28-dihidroksi- 5,11,17,23- tetra (ter-butil) kaliks[4]aren 72

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 73

5.1 Sonuçlar 73
5.2 Öneriler 75

ÖZGEÇMİŞ 84

SİMGELER VE KISALTMALA

FT-IR: Fourier transform infrared spektroskopi

NMR: Nükleer Manyetik Rözenans

SEM: Taramalı Elektron Mikroskobu

E .N: Erime noktası

İTK: İnce Tabaka Kromotoğrafisi

ITO: Indium tin oxide

FBS: Fetal bovine serum

DMSO: Dimetil sülfoksit

DMF: Dimetilformamid

$CHCl_2$: Diklormetan

MeOH: Metanol

$CHCl_3$: Kloroform

HCl: Hidroklorik asit

DMSO: Dimetil sülfoksit

DMF: Dimetilformamid

Caco-2 : İnsan Kolerektal Adenokarsinoma Hücre Hattı

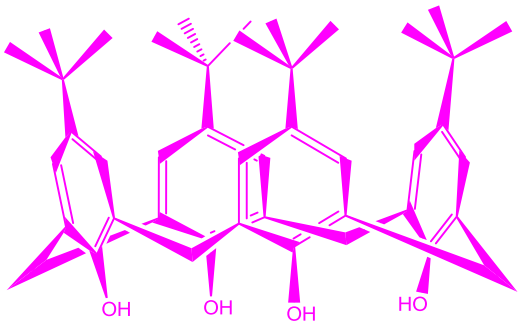
RPMI-1640 : Caco-2 Hücre Hattının kültür besiyeri

1. GİRİŞ

Organik kimya literatüründe yüzlerce sınıf ve milyonlarca bileşik yer almaktadır ve her geçen gün bu sayı hızla artmaktadır. Bu sınıflardan, supramoleküller son yıllarda kimyacıların dikkatini önemli ölçüde celbeltmiştir ve büyük bir ehemmiyete haizdir. Supramoleküller, minimum 9 azalı ve minimum üç heteroatomlu halkalı makrosiklik bileşikler şeklinde değerlendirilmektedir. Misalen taç eterler, kriptantlar, siklofanlar ve doğal siklodekstrinler verilebilir. Makrosiklik bileşiklerle ilgili en büyük atılım, 1967 yılında C.J. Pedersen'in taç eterlerle ilgili yaptığı çalışmalardır. Pedersen, bu çalışmalarıyla 1987'de Nobel Kimya ödülünü almıştır. Son 40 yılda, taç eterler ve doğal bir glikoz oligomeri olan siklodekstrinlerin ardından halka halka şekilde bir görünüme sahip bir fenol-formaldehit oligomeri olan kaliksarenler medana çıkmıştır.

Bu bileşikler, diğer makrosiklik bileşiklerden daha fazla miktarda ve yüksek saflıkta sentezlenip kolayca fonksiyonlandırılabilmektedirler.

Kaliksarenlerin özellikleri şunlardır: Halkalı yapıdadırlar, kolaylıkla türevlendirilebilirler ve birbirinden farklı büyüklükte molekül boşluğu meydana getirebilirler. Bütün bu özelliklerinden dolayı katyon, anyon, nötral moleküller ve biyolojik materyaller adına kuvvetli bir taşıyıcı özelliğine sahiptirler. Dolayısıyla büyük bir takbik etme sahasına sahiptirler. Geniş uygulama alanına sahiptirler. Superparamanyetik nanopartiküllere uygun organik moleküller immobilize edilerek farklı alanlarda kullanılabilme olanakları araştırılmaktadır. Bunlar arasında manyetik rezonans görüntüleme (MRI) ile teşhis, ilaç taşınımı ve protein/enzim gibi moleküllerin taşınımı sayılabilir. Rudershausen ve ark. son yıllarda yapdıkları çalışmalarda manyetik nanopartiküllere immobilize edilen ilaçlar canlı organizmasında istenilen bölgeye taşınarak tedavi amaçlı kullanılmaları üzerine çalışmalar yapılmaktadır(Rudershausen ve ark., 2002)





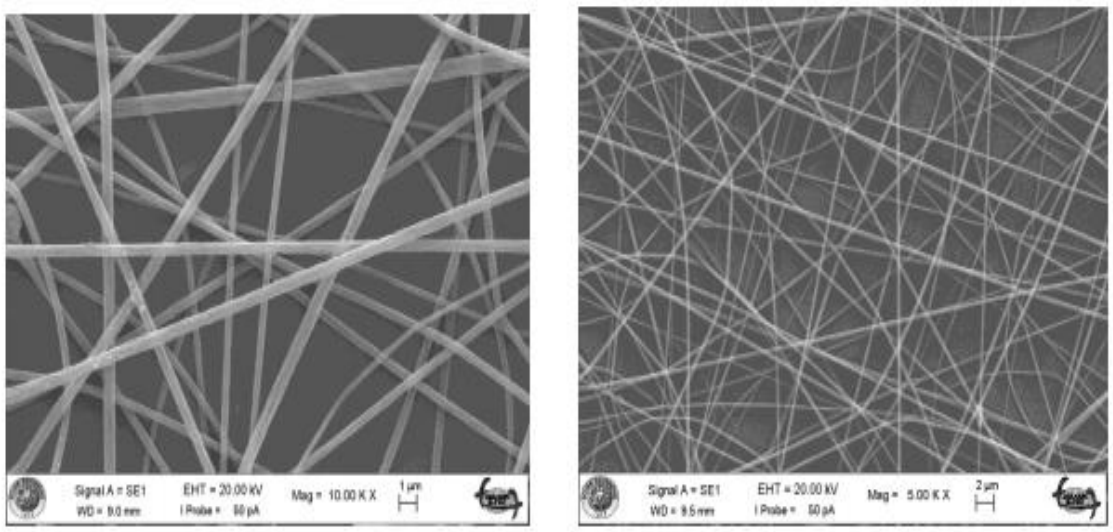
Şekil 1.1. Supramoleküller sınıfından kaliks[4]aren gösterimi

Nanoteknoloji maddenin, 1-300 nm arasında, tekrar yapılandırılması ve şuurlu bir biçimde işlenmesiyle daha gelişmiş veya bütünüyle başkalaşmış maddeler, araçlar ve sistemler kazanmak biçiminde tanımı yapılmaktadır. Nanomalzeme, 1 ile 100 nm arasındaki ebatlarında var olan metal, seramik, organik moleküler topluluk, polimerik ve ya kompozit maddelere verilen umumi bir addır. Nanomalzemeleri ananevi maddelerin dışarıda bırakan en mühim parametre, tanecik yapılarının boyutudur.

Nanomalzemeler, nanoteknolojinin öbür sahalarda tatbik edilmesi adına temel meydana getirmektedir. Son yirmi sene içinde nanomalzemeler ile endüstri, biyomedikal ve elektronik tatbik sistemleri üzerine çok sayıda etkinlik gösterilmiştir.

Nanoteknoloji devriminin başlamasıyla birlikte nano boyuttaki malzemelerin eşsiz özellikler gösterdiği ispatlanmıştır. Bu nano malzemeler arasında nanofiberler gösterdikleri üstün özellikler nedeniyle, tıp alanından ileri teknoloji ürünlerine kadar çok geniş bir uygulama alanında kullanılabilmektedirler (Saeed ve ark., 2008).

Nanofiberler, çapları 1 μm'den daha az ve uzunlukları çaplarına kıyasla oldukça fazla olan ipliksi yapılardır Lif çapının nanometre boyutuna düşmesiyle; fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri oldukça gelişmiş, düşük porozitesi ve yüksek yüzey alanına sahip nanolifler ortaya çıkmıştır. Nanofiberler kendilerine özgü yüksek yüzey alanı/hacim oranı ile mevcut teknolojiyi geliştirme ve yeni alanlarda kullanılma potansiyeline sahiptir. Nanofiberler güçlendirilmiş kompozit yapımı, koruyucu kıyafetler, filtrasyon uygulamaları, biyomedikal araçlar, elektriksel ve optik uygulamalar, nanosensörler, doku mühendisliği ve kontrollü etkin madde salımı gibi çok çeşitli alanlarda kullanım potansiyeline sahiptir (Ko ve Wan, 2014).



Şekil 1.2. Nanofiber yüzeylerinin SEM görüntüleri

İlaç taşıma sisteminin tanımı şudur: Bir etken maddenin ilaç salınım zamanının ve süratinin ayarının yapılabilmesine neden olan, bu şekilde ilacın yan tesirini en aza indirebilmemizi sağlayan araç veya formülasyonlardır. İlaç taşıma sistemleri ve buna giderek artan alakanın nedeni düşük doz alımınmış olsa bile bedende gereken tesiri yapabilmeliridir. Yine ilaç plazma konsantrasyonunun arzu edilen zaman ve sebatkarlıkta olmasında da destek sağlarlar.

Kanser ölümcül bir hastalıktır ve dünyada bir yılda 8,2 milyon, Türkiye'de ise 422,000 kişinin ölümüne sebep olmaktadır. Günümüzde birbirinden farklı tanı ve tedavi yöntemine sahip 100 farklı kanser türü olduğu bilinmektedir. Bu kanser türleri içerisinde akciğer, prostat, kolon, mide ve karaciğer kanseri erkeklerde en sık görülen kanser türleriyken; göğüs, akciğer, kolon, rahim ve mide kanseri de kadınlarda en sık görülen kanser türleridir. Kansere özellikle endüstrileşmiş batı ülkelerinde daha sık rastlanır, fakat gelişmekte olan ülkelerde de bu hastalığın yayılma hızı gittikçe yükselmektedir. Önümüzdeki iki yılda kanser vakalarındaki oranın %70 artması beklenmektedir.

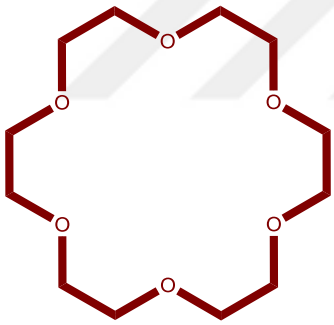
Bu çalışmada, farklı fonksiyonel gruplar ile modifiye edilmiş kaliksaren türevli bileşiklerden, elektro döndürme yöntemi ile nanolifler oluşturarak insan koleraktal kanser hücreleri için üç boyutlu (3B) iskele oluşturulması planlanmaktadır. Uygun bir şekilde fonksiyonlandırmayla kaliksarenlerden elde edilen bu 3B iskeleler ile kolon kanseri hücrelerinin etkileşimleri incelenecektir. Kaliksarenlerin 3B platformlarına

yönelik çok az çalışma yapılmıştır. Literatürde bu kaliksarenlerle üretilen nanolifler ile Caco-2 (insan kolorektal adenokarsinoma) hücresi ile yapılan ilk çalışmadır. Bu da kaliksarenin, canlılar üzerine yapılacak farklı çalışmalarına öncülük edeceği umulmaktadır. Bu öngörünün sebebi, farklı yüzey modifikasyonlu kaliksaren nanoliflerin, kolon hücrelerinin adezyonunu ve proliferasyonunu destekleyen daha iyi platformlar sağlayabilmesidir. Sonuç olarak, kaliksaren nanolifler biyomedikal ve doku mühendisliği uygulamaları için uygun bir yaklaşım olabilir.

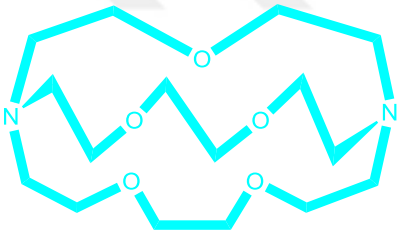
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1.SUPRAMOLEKÜLLER

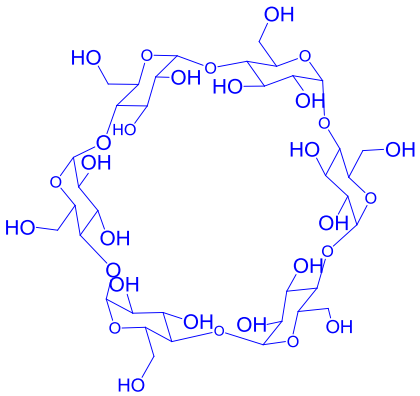
Supramoleküler kimyada ilk kuşak ve ikinci kuşak bileşikleri şeklinde bilinen taç eter ve siklodekstrinlerin kimyası son 40 yılı aşkındır bir çok alanda etkince kullanılmaktadır(Gutsche, 1991). Supramoleküler kimyanın üçüncü kuşak bileşiği olarak bilinen, değişik moleküllerle kompleks yapabilen hidrofobik bir boşluk oluşturacak şekilde fenolik birimlerin hidroksil gruplarına göre orto pozisyonundan metilen köprüleri ile birbirine bağlanmış, halkalı esnek yapıdaki bir oligomer bileşik olan kaliksarenler, her geçen gün yeni bir özelliğinin keşfinin ortaya çıkması bu bileşiklere olan ilgiyi oldukça arttırmıştır. Günümüzde enzim-mimik, sensör (iyon seçici elektrok, nem, protein), membran, kromatografi (HPLC ve GC gibi), katalizör, monolayer, enantiyomerlerin ayrılması, enantiyomerlerin tanınması, katyon, anyon ve molekül taşınımı gibi geniş uygulama sahası olan kaliksarenler supramoleküler kimyanın vazgeçilmez bileşiklerindendir.



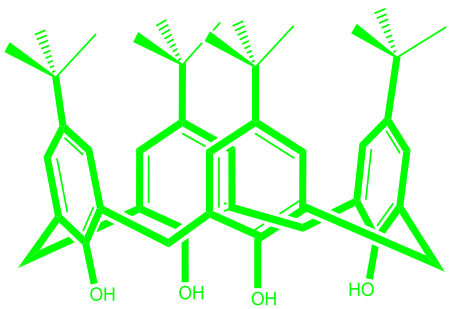
taç eter



Kriptand



Siklodekstrin

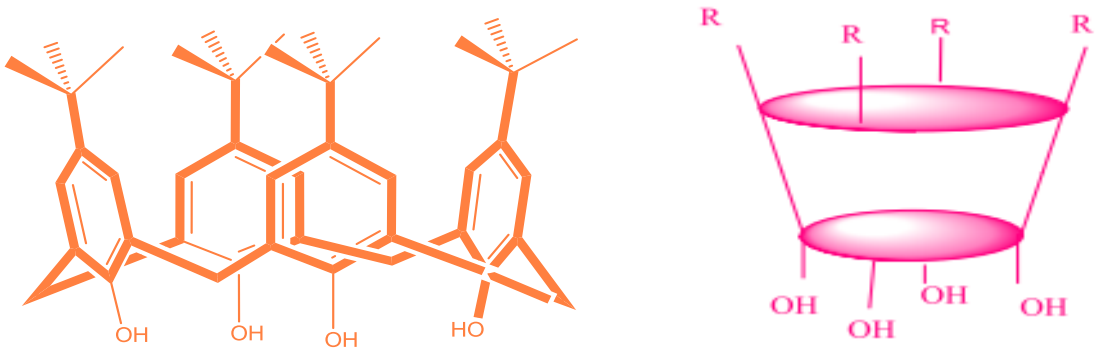


Kaliks[4]aren

Şekil 2.1. taç eterler, siklodekstrinler, kaliks[4]arenler ve kriptand supramoleküllerin yapısı

2.1.1.KALİKSARENLER

Kaliksarenlerin sentezi, tarihte ilk kez Almanyalı kimyacı Adolph Von Baeyer tarafından 1872 yılında yapılmıştır. Enstrümantal tekniklerin yetersizliğinden dolayı yapısı tam olarak aydınlatılamamış ve ticari olarak kullanılamamıştır. Leo Baekeland 20. Yüzyılda gerçekleştirdiği çalışmada, fenol ile formaldehit reaksiyonundan katı esnek bir reçine elde etmiştir (Baekeland, October 1908). Bakelite olarak bilinen reçinenin patentini almış ve ilk ticari başarıyı kazanmıştır. Bu başarı birçok araştırmacının da dikkatini çekmiştir. Yaklaşık olarak 40 yıl sonra Avusturyalı kimyacı Alois Zinke ve arkadaşları *p-ter*-bütil fenol ve formaldehiti NaOH varlığında 200^{o}C ye kadar ısıtarak etkileştirmiştirler. Büyük molekül ağırlığına sahip erime noktası yaklaşık 340 olan bir molekül elde etmişler ve bu ürünün tetramerik yapıda olduğunu savunmuşlardır (Zinke ve Ziegler, 1944). Kaliksarenin babası olarak bilinen David Gutsche ve arkadaşları tarafından 1980 yılından itibaren yaptıkları çalışmalarda elde edilen yapının tetramer olmayıp tetramer, hekzamer, oktamer ve halkalı oligomer karışımı olduğunu ispatlamışlardır. Daha sonra Gutsche ve arkadaşları siklik tetramer, hekzamer, oktameri ayrı ayrı arı biçimde kazanmayı sağlamışlardır (Gutsche ve Iqbal, 1990) “



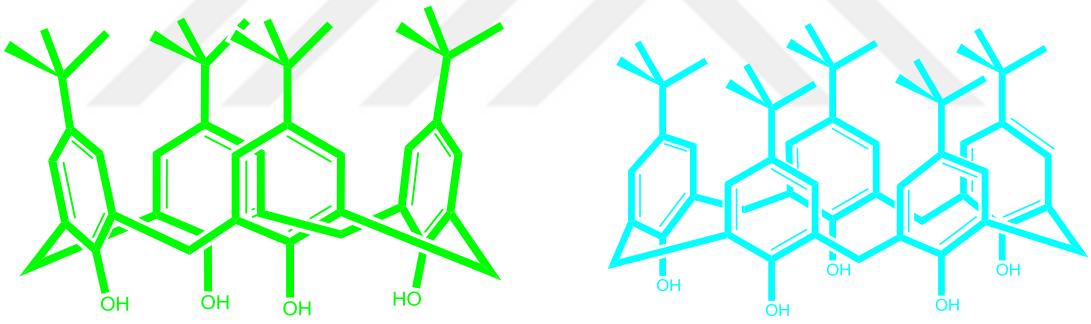
Şekil 2.2.*P-ter*-Bütil kaliksarenler farklı gösterisi

2.1.1.1.Kaliksarenlerin isimlendirilmesi

Kaliksarenler halkalı yapıda, fenolik halkaların metilen gruplarıyla birbirine bağlanması sonucu oluşan taç şeklindeki oligomerlerdir. Bu bileşikler ilk defa Gutsche tarafından pratik bir yolla isimlendirilmiştir. Bu isimlendirme tarzı IUPAC tarafından da kabul edilmiştir.

Kaliks[n]aren teriminin etimolojisi şudur; Antik Grekçe'de manası taç olan "Chalice" ve organik kimyadaki aromatik halkayı belirten "aren" sözcüklerinin bir araya gelmesinden meydana gelmiştir. Kaliks ile aren sözcüklerinin arasındaki köşeli parantez arasında verilen"n" harfi ise fenolik birimlerin ne kadar olduğunu dolayısıyla makrosikliğin ebatını belirtir. Bundan dolayı bu çeşit bileşiklerin adlandırılmasında son senelerde, ya aromatik halka üstündeki sübstitüentlerin mevkilerini belirten sayı verme yöntemi tercih edilir ve ya fenolün substitue bölümüyle fenolik birimin adedini belirten adlandırma tarzı tercih edilir.

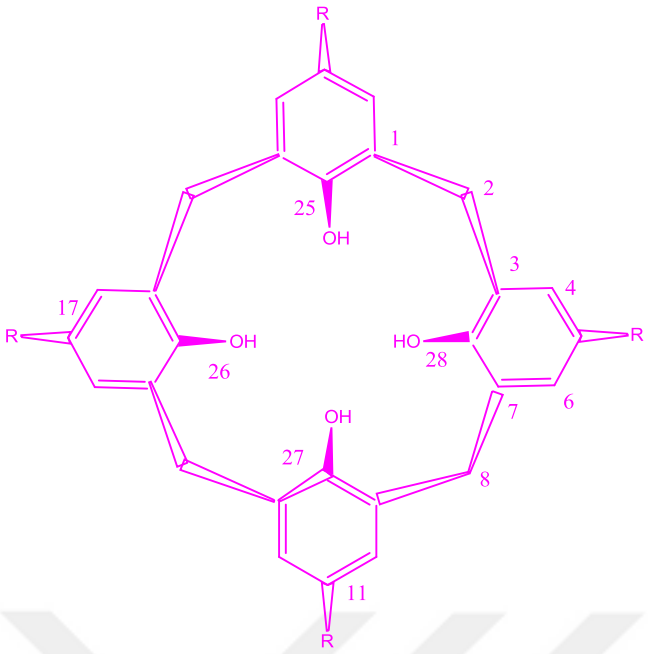
.



p-ter-bütil-kaliks[4]aren *p-ter*-bütil-kaliks[5]aren

Şekil 2.3. *p-ter*-butilkaliks[4]aren ve *p-ter*-butilkaliks[5]aren

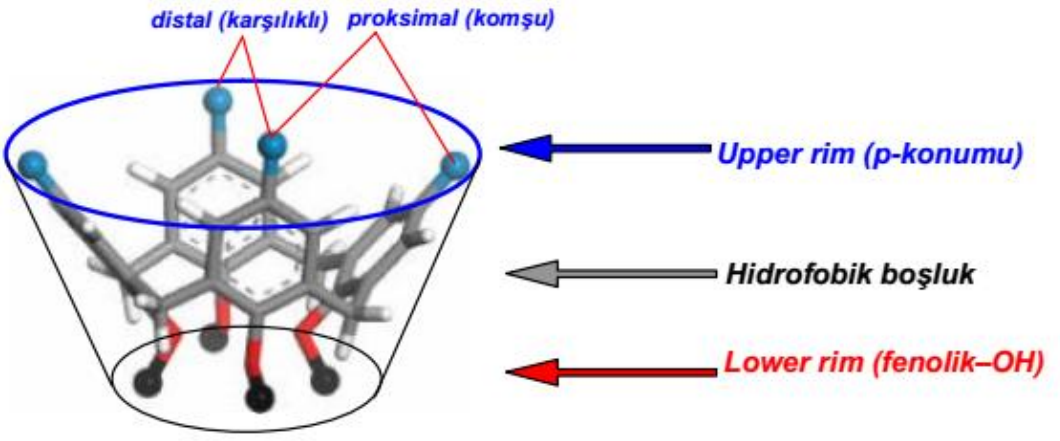
Kaliks[n]arenler 4,5,6,7,8,…vb. birbirinden ayrı sayıda fenolik birimlerden ve sübstitue kısımlarından oluşurlar. Farklı sübstitue fenoller adına kaliksarenler adlandırılırken fenolün sübstitue bölümü kaliksarenlerin ön kısmına yazılır. Bu konuyla bağlantılı şekilde, kaynaklarda *p*-alkil fenolden meydana gelen dört azalı halkalı tetramer yapısına sahip kaliksaren, bundan daha sistemli bir şekilde 5,11,17,23-tetra-alkil-25,26,27,28-tetrahidroksi kaliksaren biçiminde,çok kısa ise *p*-alkil kaliks[n]arenler biçiminde adlandırılır. (Gutsche, 1989a)



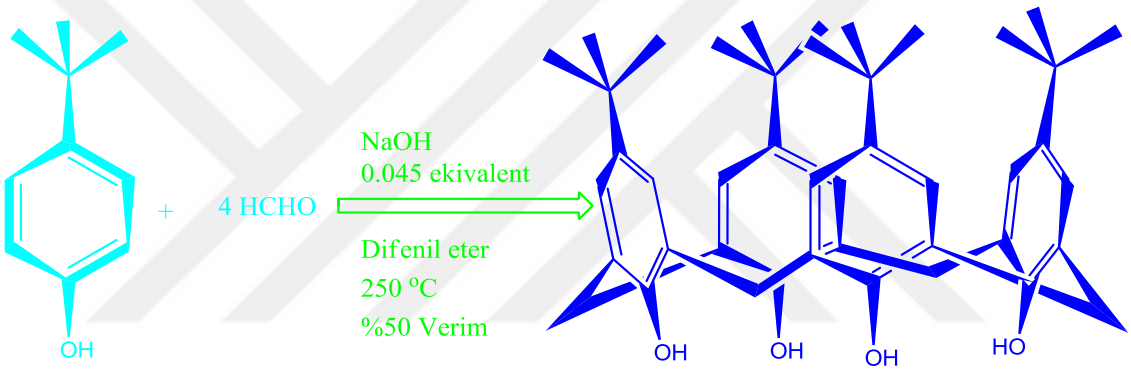
Şekil 2.4.5,11,17,23-tetra-ter-bütil-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren

2.1.1.2.Kaliksarenlerin sentezi

Kaliksarenler, bazik koşullarda *p*-sübstitüeli fenoller ve formaldehitin kondensasyon reaksiyonundan elde edilebilirler (Şekil 2.5). Kaliks[4]arenleri sentezleme prosedürü, Gutsche tarafından keşfedilmiş, (Cornforth ve ark., 1955) tarafından modifiye edilmiş ve , (Gutsche ve Lin, 1986) tarafından optimize edilmiştir. Gutsche'nin metodu, *p-ter*-bütilfenol, %37 formaldehit ve NaOH' in ısıtılmasından ibarettir (Gutsche ve ark., 1981). Yeterli baz ilave edilmediğinde tetramerin verimi düşük veya sıfır olmaktadır. Fakat çok fazla baz ilavesi de yüksek verimlerde *hekzamer* oluşumuna, *tetramerin* ise düşük verimlerde oluşmasına neden olmaktadır. Yüksek verimlerde *tetramer* elde etmek için ilave edilmesi gereken baz miktarı, fenole göre 0,03-0,04 eşdeğer miktarlar arasındadır. Ayrıca *tetramer*, termodinamik bir ürün olarak da düşünülmektedir. Reaksiyon sıcaklığı, difenil eterin geri soğutucu altında kaynayabilmesi (refluks) için gerekli yüksek sıcaklık değerlerinde olmalıdır (Gutsche, 1989a)



Şekil 2.5. Kaliks{4}aren bölgelerinin tanımlanması



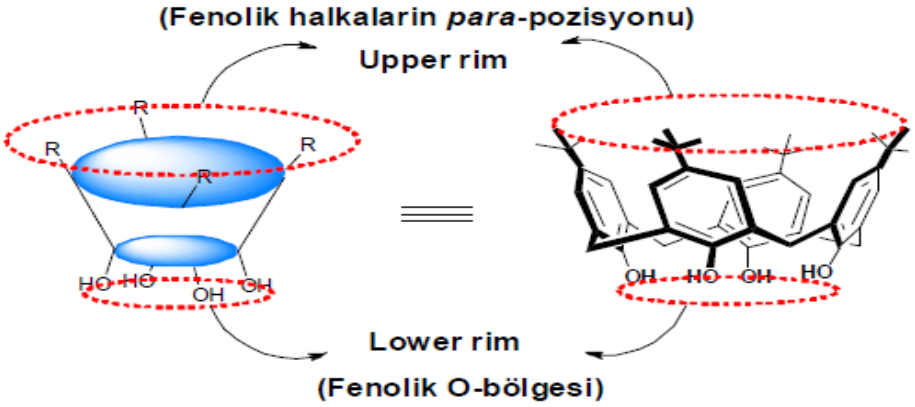
Şekil 2.6. kaliks[4]aren Sentez Şeması

Geçmişte Petrolit kurumu, ham yağ emülsiyonları için emülsiyon giderilmesi üzerine çalışmıştır. Alkilfenil-formaldehit reçinelerinden elde edilen ürünler, test edilen ürünler arasında idi. Bu kurum tarafından halkalı *hekzamer* ve halkalı *oktamerin* hazırlanması için geliştirilen prosedürler, daha sonra Gutsche tarafından modifiye edilmiştir (Gutsche ve ark., 1981). Hekzamerin oluşumu, daha büyük çaplı katyon bazı (genellikle KOH kullanılır) ve daha fazla miktarda baz kullanıldığında (0,34 eşdeğer) mümkün olur. Reaksiyon ksilen içerisinde refluks ile tamamlanır. Ayrıca (Gutsche ve ark., 1990) tarafından RbOH kullanılarak kaliks[6]arenlerin sentezi için de bir prosedür geliştirilmiştir. *Oktamer*, reaksiyon için gerekli, düşük kaynama noktasına sahip çözücüler varlığında ve katalitik miktarda baz kullanıldığı için kinetik kontrollü bir ürün olarak düşünülmektedir. *p-ter*-Bütilfenol ve paraformaldehit kullanılarak fenole

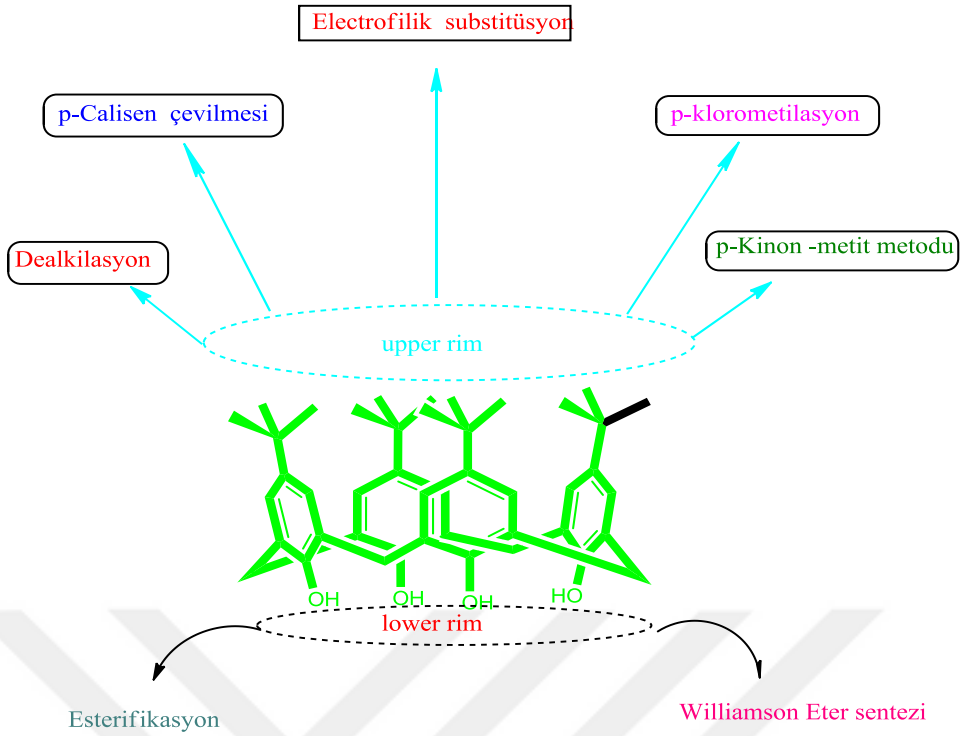
göre 0,03 eşdeğer NaOH varlığında ksilen içerisinde oktamer, ana ürün olarak elde edilir (Gutsche ve ark., 1990)

2.1.1.3.Kaliksarenlerin yapısal özellikleri

Bunların halkalı haldeki taç eterlere, siklodekstrinlere göre sentezlerde aşırı sayıda kullanılmasının sebebi rahatlıkla türevlendirilebilmesidir. Bunların çözünürlüklerinin kısıtlılığından ötürü, arzu edilene yönelik kaliksarenler kazanmak adına, kaliksarenlerin fenil halkasının *para* konumundan (upper rim) yahut fenolik oksijen (lower rim) üstünden değişik fonksiyonel öbeklerle türevlendirilmesi elzemdir

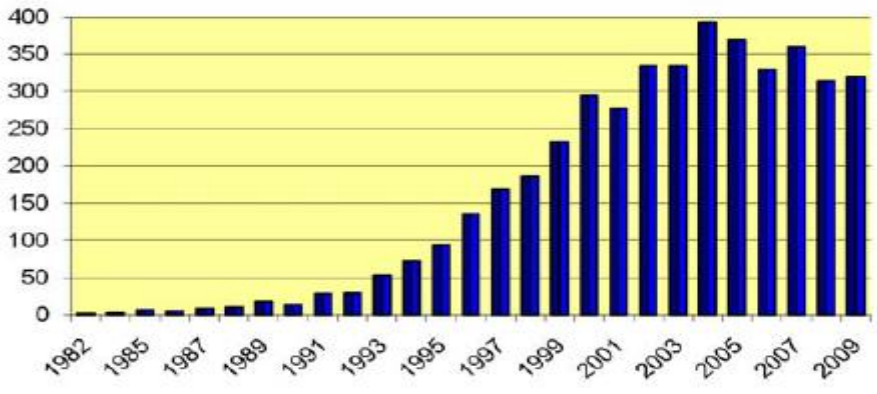


Şekil 2.7. Kaliksarenlerin fonksiyonlandırılması

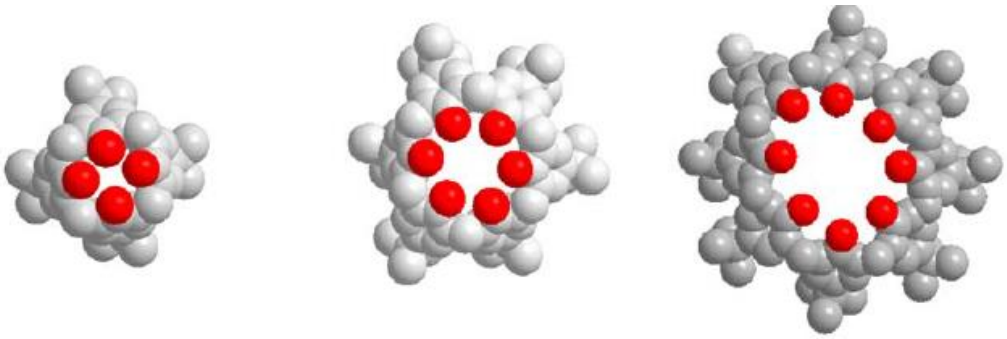


Şekil 2.8. Kaliksarenlerin *p*-konumundan ve fenolik-OH'dan fonksiyonlandırılması

Kolaylıkla fonksiyonlandırılmaları sebebiyle, değişik gruplar ile türevlendirilerek kimyasal özellik taşıyan bu bileşiklerin sentezi ile ilgili birçok makale yayınlanmıştır. Şekil 1.9 daki grafiktende görüldüğü gibi özellikle son yıllarda kaliksarenlere olan ilginin daha da artığı görülmektedir. Kaliksarenlerin en az üç en fazla yirmi tekrarlanan birimden oluştuğu bilinmektedir. Fakat bu alandaki çalışmaların büyük bir kısmını kaliksaren 4,6,8, oluşturmaktadır. Bütün bu çalışmalardaki en önemli faktör kaliksaren boşluğu ile ilgilidir. Kaliksaren,4,6,8 boşluk hacimleri sıralı bir şekilde 3.0, 7.6 ve 11.7 Å tur



Şekil 2.9. Kaliksaren kimyasındaki yayın sayısının yıllara göre dağılımı

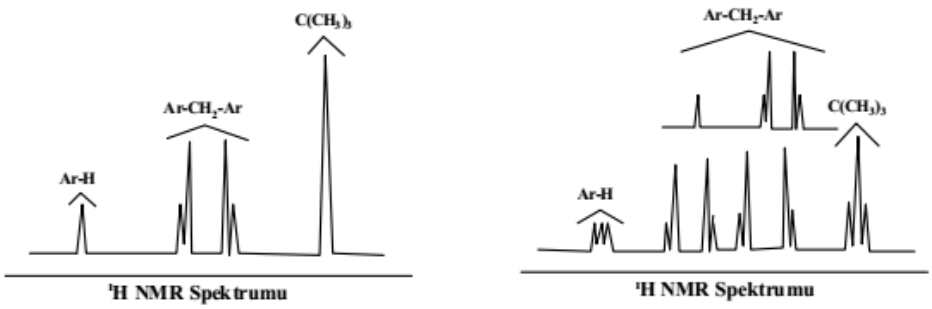


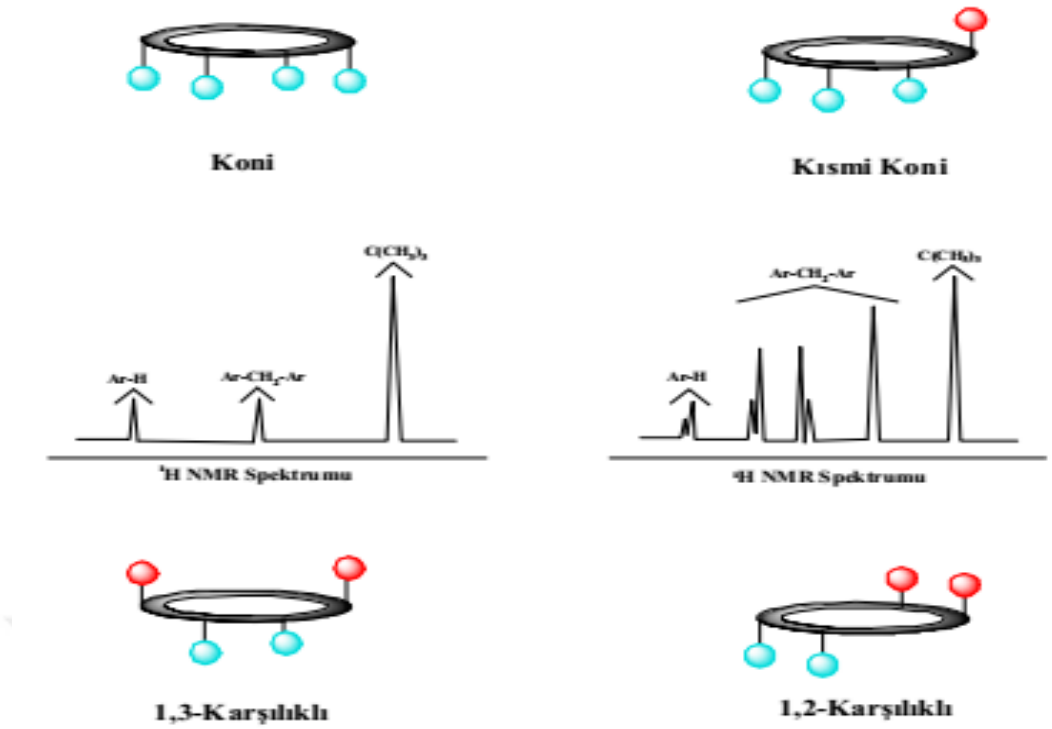
p-ter-bütilkaliks[4]aren *p-ter*-bütilkaliks[6]aren *p-ter*-bütilkaliks[8]aren

Şekil 2.10. *p-ter*-bütilkaliks[n]arenlerin yapı modelleri (n = 4, 6 ve 8)

Substitue işlemi gerçekleşmemiş kaliksarenler oda sıcaklığında ve çözelti içinde kinetik bir konformasyona haizdir. Bu konformasyonlar aril halkalarının aşağı ve yukarı yönlenmesinden ötürü meydana gelmektderi. Kaliks[4]arenin 4 ayrı konformasyonu mevcuttur. Bahsettiğimiz konformasyonlar "***koni***", "***kısmi koni***" , "***1-2 karşılıklı***" ve "***1-3 karşılıklı***" şeklinde isimlendirilir. Bir kaliks[4]aren bileşiğinin hangi konformasyonda yer aldığı bu bileşiğin köprü Ar-CH_2-Ar protonlarının ^{1}H-NMR spektrumlarına bakılarak tespit edilebilir.







Şekil 2.11. *p-ter*-Bütilkaliks[4]arenin 4 ayrı müşahhas konformasyonları ve ^{1}H NMR spektrumları

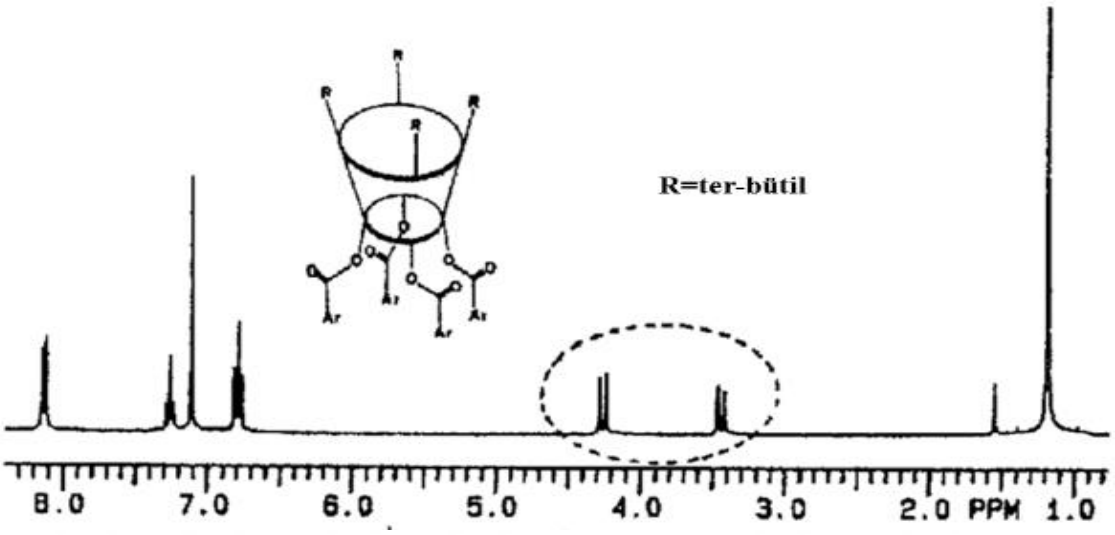
Genellikle sübstitüe olmamış kaliksarenler oda sıcaklığında ve çözelti içerisinde hareketli bir konformasyona sahiptir. Burada konformasyonel ara dönüşümün azaltılması için başlıca iki yol vardır.

a) Fenolik-O'den ve *p*-pozisyonundan büyük hacimli gruplar bağlamak
b) Her bir aril halkasına molekül içi köprüler kurmak (Takeshita, 1995)

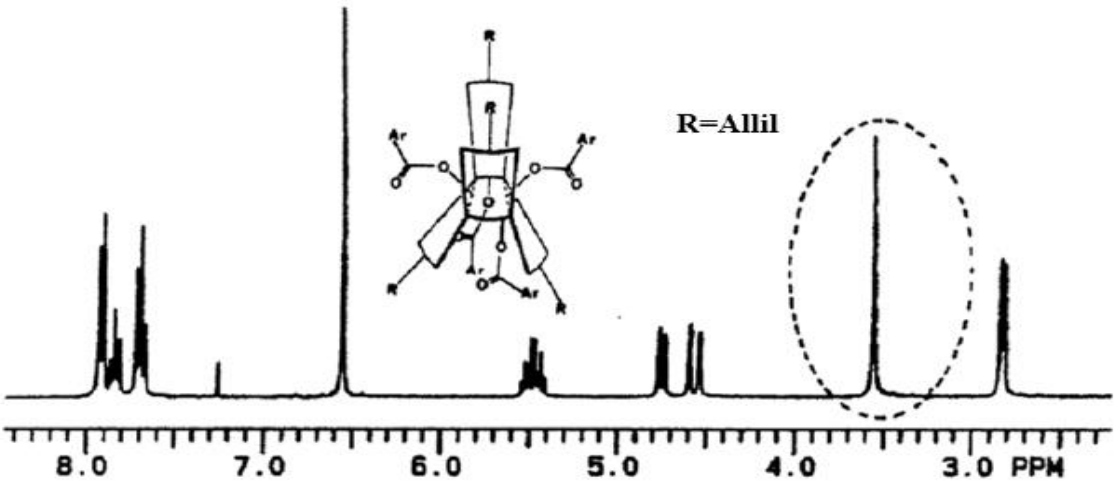
Konformasyonlar arasındaki dönüşüm hızına sübstitüentlerin yanısıra çözücüler de etki etmektedir. Kloroform, toluen, brombenzen ve karbondisülfür gibi çözücüler konformasyon dönüşüm serbest enerjisini yükseltir. Bu da çözücünün kaliksarenlerle (endokaliks) kompleks oluşturduğunu gösterir. Aseton ve asetonitril gibi çözücülerin bilhassa piridinin molekül içi hidrojen bağlarını bozması sebebiyle konformasyon dönüşümüne etkisinin büyük olduğu düşünülmektedir (Gutsche ve ark., 1990)

Aromatik halka arasındaki metilen hidrojenleri yüksek ısı değerlerinde singlet pik verirken düşük ısılarda bir çift dublet verir. Bu hal kaliks[4]arenlerin ısı farklılaşması ile konformasyonlarının farklılaştığını ortaya koymaktadır. (Gutsche, 1989c)

Mesela oda sıcaklığında *p-ter*-bütilkaliks[4]aren tetrabenzoatın $_1$H NMR spektrumuna (Şekil 2.12) göz attığımız an görürüz ki metilen protonlarının bir çift dublet verdiğini belirleyebiliriz. Bu spektrum *p-ter*-bütilkaliks[4]aren tetrabenzoatın koni konformasyonunda var olduğunu belirtir. *p*-Allilkaliks[4]aren tetrabenzoat bileşiğindeyse metilen protonlarının bir singlet vermesi onun 1,3-karşılıklı konformasyonda bulunduğunu belirtir.



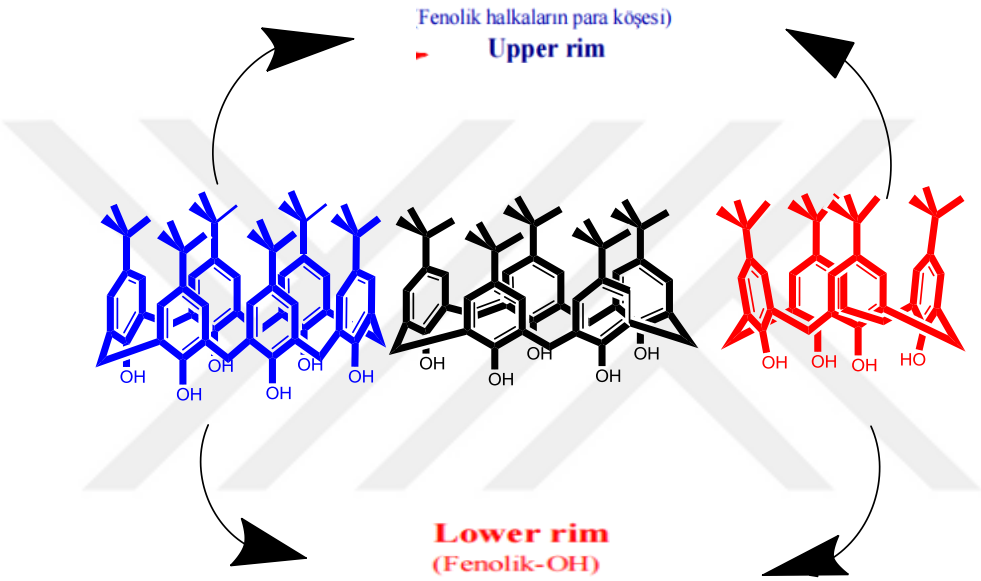
Şekil 2.12. *p-ter*-Bütilkaliks[4]aren ^{1}H NMR spektrumu



Şekil 2.13. *p*-Allilkaliks[4]aren ^{1}H NMR spektrumu

2.1.1.4.Kaliksarenlerin fonksiyonlandırılması

Kaliksarenler, fenolik-*O* (*lower rim*) yahut aril halkalarının *para* köşelerine (*upper rim*) işlevsel öbeklerinin entegresiyle kimyevi ayrışma ortaya çıkabilir. (Şekil 2.14). Fenolik hidroksil öbeklerinin değişmesi eter, ester, keton, fosfin, imin, oksim öbeklerinin entegresiyle mümkündür. (Ting ve ark., 1990). Fenolik-*O* 'den fonksiyonlandırma, değişik reaktif ve koşulların tercih edilmesi sayesinde elde edilebilmiştir.



Şekil2.14: Kaliks[4]arenin p-konumunun ve fenolik-*O* bölgesinin sistematik gösterimi

- **Kaliksarenlerin Fenolik Birimlerin *para*-Pozisyonundan (Upper Rim) Fonksiyonlandırılması**

p-ter-bütilkaliks[n]arenlerin çözünürlükleri az olduğundan, istenilen amaca göre kullaım alanları kısıtlı kalmaktadır. Bu yüzden kaliksarene bağlı *ter*-bütil gruplarının ber taraf edilmesi (dealkilasyonu) ile kaliksarenlerin fenolik bölüklerin *p*-pozisyonuna pek çok işlevsel bölüğün entegresine olanak tanır. Bu işlem ise kısmi O-açilli yahut O-alkilli kaliksarenlerin *ter*-bütil bölükleri tercihli şekilde Friedel-Crafts tepkimesi ile kolayca uzaklaştırılabilmektedir (Dalbavie ve ark., 2000). Buna göre tolüenin çözücü olduğu bir ortamda,$AlCl_3$ gibi kuvvetli bir lewis asidinin tesiriyle aromatik halkadan alkil gruplarının yarıdan fazlasının ber taraf edildiği malum bir durumdur. Mainz ve Gutsche'nin grupları, tarafından yapılan çalışmalarda ise, *p-ter*-bütilkaliks[4]aren %65-

70 randıman kaliks[4]arene, *p-ter*-bütilkaliks[6]aren %89 randıman kaliks[6]arene ve *p-ter*-bütilkaliks[8]aren %93 randıman kaliks[8]arene dönüştürülmüştür (Gutsche ve Lin, 1986; Gutsche, 1989b)

Kaliksarenlerin *p*-pozisyonu üstünden amaca göre modifiye etkinliklerinin çoğu bromlama (Hamada ve ark., 1990), iyotlama(Arduini ve ark., 1990) nitrolama (Loon, 1992), sülfolama (Shinkai ve ark., 1986), klorsülfolama (Morzherin ve ark., 1993), klormetilleme (Nagasaki ve ark., 1993), açilleme (Gutsche ve Lin, 1986), diazolama (Shinkai ve ark., 1989) ve formülasyon gibi yer değistirme reaksiyonlarıdır. Kaliksarenler üzerinde gerçekleştirilebilen bu reaksiyonlar elektrofilik "kinon-metit" tipi yer değiştirme reaksiyonlarıdır. Bu metoda göre ilk olarak dealkile olmuş kaliksaren formaldehit ve dimetil- ya da diallilamin ile etkileştirilerek kaliksaren türevli bir Mannich bazı sentezlenir. Daha sonra bu Mannich bazı metil iyodür ile etkileştirilip kuvaterner tuzuna dönüştürülebilir. Bu kuvaterner tuzları da nükleofillerle çok kolay yer değiştirme tepkimesi verdiğinden bu durumda kaliksarenlerin fenolik birimlerinin *para* konumu üzerinden değişik fonksiyonlu nükleofiller bağlanabilir (Gutsche ve Lin, 1986).

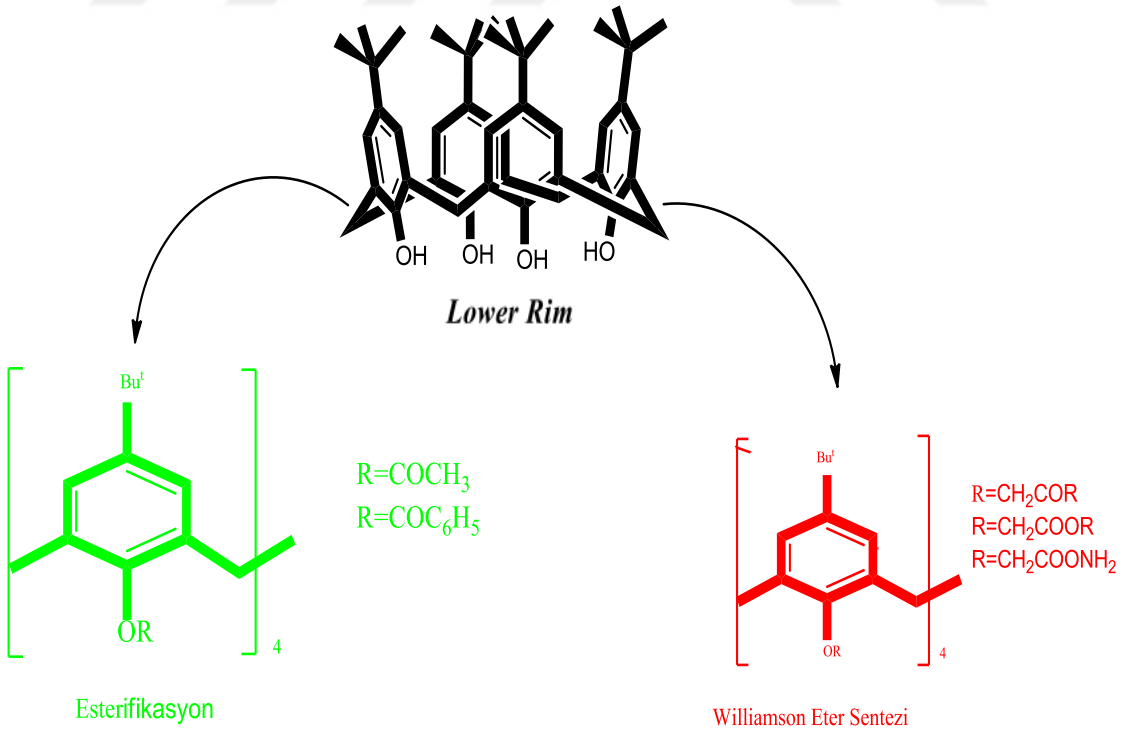
Elektrofilik aromatik yer değiştirme reaksiyonlarının ayrı özel bir türü de ipso sübstitüsyon reaksiyonudur. Bu reaksiyonda ayrılan grup hidrojenden farklı bir grup olmakla beraber kaliksarenlerde de ipso fonksiyonlandırma yapılabilir. Bu olayın gerçekleşmesi adına kaliksarenin para konumundaki *t*-bütil grupları etkisizleştirilmeden elektrofilik yer değiştirme reaksiyonu yapılabilir. Verboom ve grubu (1992), *p-ter*-bütilkaliks[4]aren'in di ve tetra metoksi, propoksi, ve ester türevlerini ipso sübstitüsyonla para pozisyonundan nitrolamışlardır.

Kaliksaren türevlerini sentezlemek adına tercih edilen başka bir alternatif yol ise *p*-Claisen çevrilmesidir. Kaliks[4]arenin alil eterlerinin *p*-Claisen çevrilmesi metodu ise, fenolik grupların *p*-pozisyonuna fonksiyonel grupların transferinin gerçekleştiği bir başka metottur (Gutsche ve ark., 1985). Bu reaksiyonda öncelikle kaliks[4]arenin fenolik birimleri allil eter olacak şekilde bazik ortamda allil bromür ile reaksiyona sokulur ve kaliks[4]aren tetraallil eteri meydana gelir. Bu bileşik N,N-dimetil anilin ile geri soğutucuyla ısıtılırsa, allil grupları *para* pozisyonuna göçer ve %75 verimle p-allil kaliks[4]aren kazanılmış olur. 1990'lı yıllarda Gutsche'nin çalışma arkadaşı Gibbs, yeni bir yöntem geliştirerek Claisen düzenleme reaksiyonlarının diğer kaliksarenlere de uygulanmasını sağladı (Aktaş, 2015). Kaliksarenler, bu metotla para konumundan çeşitli fonksiyonel gruplar tarafından türevlendirilebilirler(Gutsche ve Lin, 1986). Kaliksarenlerin türevlendirilmesinde malum metotlardan bir diğeri de p-klor

metillemedir. Kaliks[4]arenin oktil klormetil eter ve $SnCl_4$ ile reaksiyonundan %80 verimle pklor metil kaliks[4]aren kazanılır.

➢ **Kaliksarenlerin fenolik oksijen üzerinden fonksiyonlandırılması**

Kaliksarenler bir fenol türevi olan halkalı bileşikler olarak, hemen hemen fenolik bileşiklerin verdiği tüm reaksiyonları *para* konumu üzerinden türevlendirilmesinin aksine daha kolay verebilmektedir. Bu nedenle fenolik hidroksil grupları eter, ester, keton, fosfin, imin ve oksim gruplarının bağlanmasıyla modifiye edilebilir (Ting ve ark., 1990). Ayrıca –OH gruplarının –H, -SH (Gibbs ve ark., 1995), -Br, -Cl (Van Gelder ve ark., 1996), - NH2 (Aleksiuk ve ark., 1995) ve $–CH_3$ (Van Gelder ve ark., 1997) gibi gruplarla yer değiştirmesi de yapılmıştır (Yılmaz 2003). Oluşan bileşiklerin her zaman çıkış maddelerine göre, düşük erime noktalı ve daha fazla çözünür olması bunların üstündeki çok çalışılmasına nedendir. Fakat hareketli bir konformasyonları olan kaliksarenler bu grupların bağlanması ile rahatlıkla rijit (durağan) yapılar oluşturulabilir (**Şekil 2.15**).



Şekil 2.15. Kaliksarenlerin fenolik oksijen konumundan (lower rim) fonksiyonlandırılması

2.1.1.5.Kaliksarenlerin Fiziksel ve kimyasal Özellikleri

- **HPLC analizleri**

  p-ter-Bütilkaliksaren 4,6,8 bileşiklerin sentezinde yüksek saflıkda ve yüksek verimde kaliksaren bileşikleri kristal olarak elde edilebilmektedir. Ancak farklı fonksiyonel gruplara sahip kaliksaren bileşiklerinin sentezinde oluşan ürün ve ara ürünlerin ayrılmasında Flash kromotoğrafisi, Kolon Kromotoğrafisi ve HPLC kromotoğrafisine ihtiyaç duyulabilir. Özelikle ters faz kolon ile büyük molekül ağırlıklı kaliksarenler HPLC ile ayrım gerçekleştirilebilir.

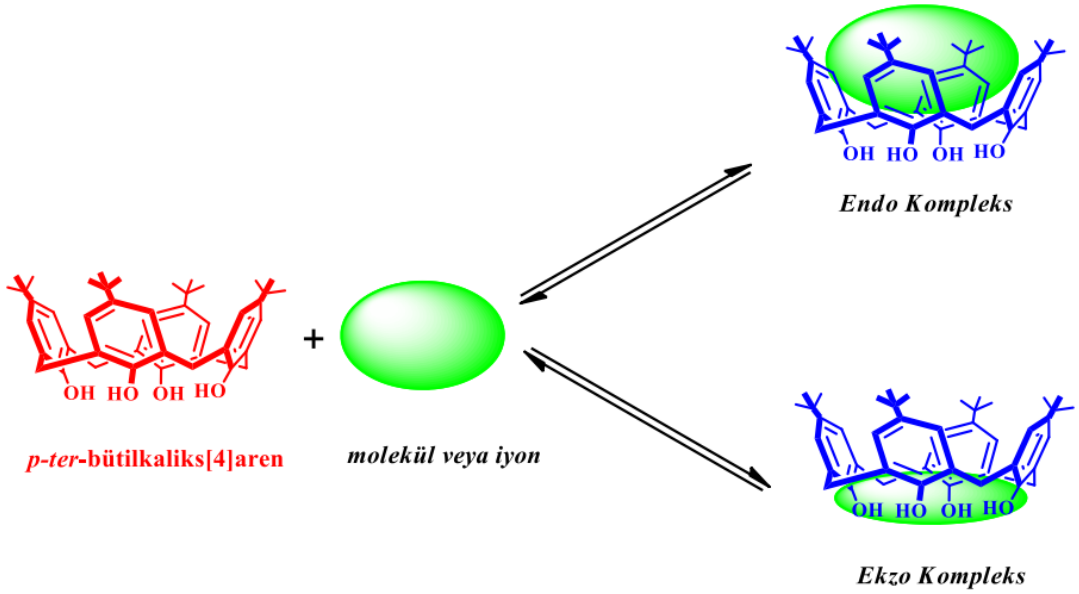
- **PKa değerleri**

Kaliksaren bileşiklerinin asidik değerleri meydana geldikleri monomerlerden daha fazladır. Kaliksaren bileşiklerinin aitlikleri para pozisyonundan sülfolama veya nitrolama yapıldığında daha artmaktadır (Shinkai ve ark., 1991)

2.1.1.6.Kaliksarenlerin Kullanım Alanları

- **Moleküller veya iyon taşıma çalışmalarında kullanılması**

Kaliksarenler ayrı konformasyonlarda ve taç eterlerdeki gibi halkalı yapıda ve fenolik birimlerinin sayısına göre boşluk çapları değişiklik göstermektedir. Özellikle sepet gibi boşluklara sahip olduklarından bir çok organik bileşiklerle veya iyonlarla kompleks yapabilme özelliğine sahiptirler. Bu bileşiklerin kompleksleri endo- ve ekzo-kompleksleri şeklindedir (**Şekil 2.16**). Bu kompleksleşmeler sayesinde kaliksarenler; anyon, katyon ve molekül taşıyıcı şekilde uzun süredir kabul görmektedir (Akceylan ve ark., 2006).

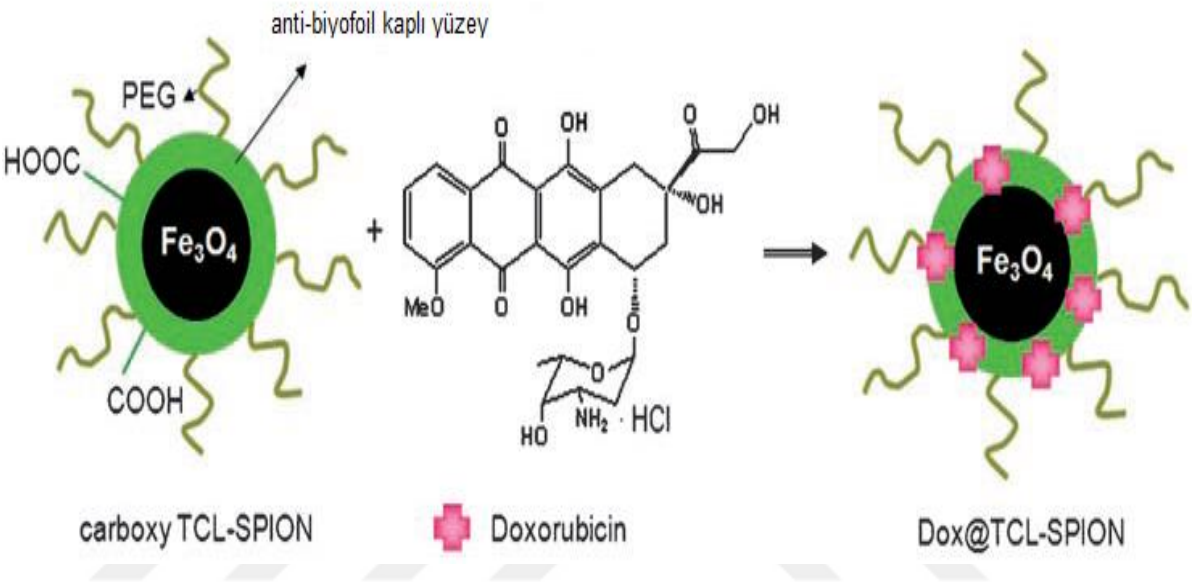


Şekil 2.16. Kaliks[4]arenlerin kompleks oluşum mekanizması

- **Manyetik Nanopartiküllere İmmobilizasyon Çalışmalarında Kullanılan Kaliksarenler**

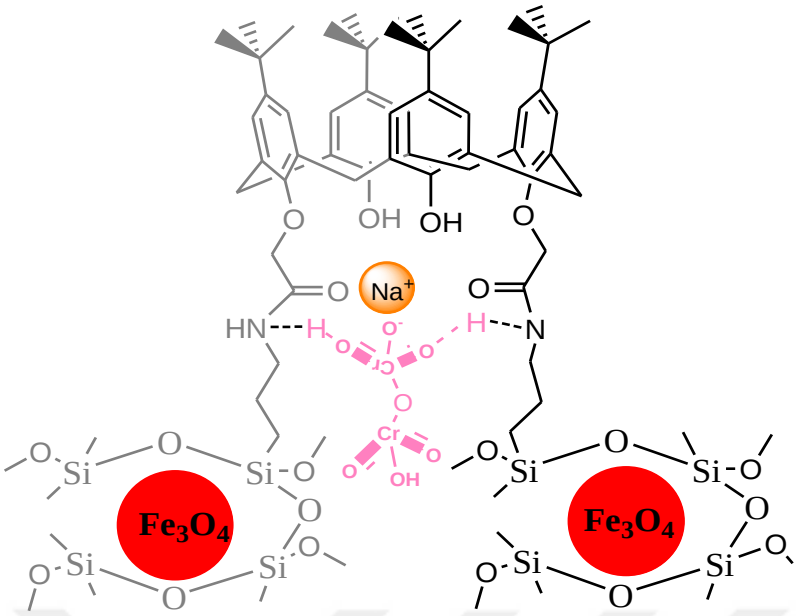
Superparamanyetik nanopartiküllere uygun organik moleküller immobilize edilerek farklı alanlarda kullanılabilme olanakları araştırılmaktadır. Bunlar arasında manyetik rezonans görüntüleme (MRI) ile teşhis, ilaç taşınımı ve protein/enzim gibi moleküllerin taşınımı sayılabilir. Rudershausen ve ark. son yıllarda yapdıkları çalışmalarda manyetik nanopartiküllere immobilize edilen ilaçlar canlı organizmasında istenilen bölgeye taşınarak tedavi amaçlı kullanılmaları üzerine çalışmalar yapılmaktadır(Rudershausen ve ark., 2002)

Yu ve ark. yaptıkları bir çalışmada manyetik nanopartiküller anti-biyofoil özellikli bir polimer ile modifiye edildikten sonra Doxorubicin denen bir ilaçla iyonik ve hidrojen bağı gibi etkileşime girerek kanserli bir hücrenin tedavisinde kullanılmış. Bu çalışmada manyetik rezonan görüntüleme (MRI) yöntemi kullanılarak ilacın taşınımını izlenmiştir (Yu ve ark., 2008).



Şekil 2.17. Doxorubicin yüklü manyetik nanopartiküller

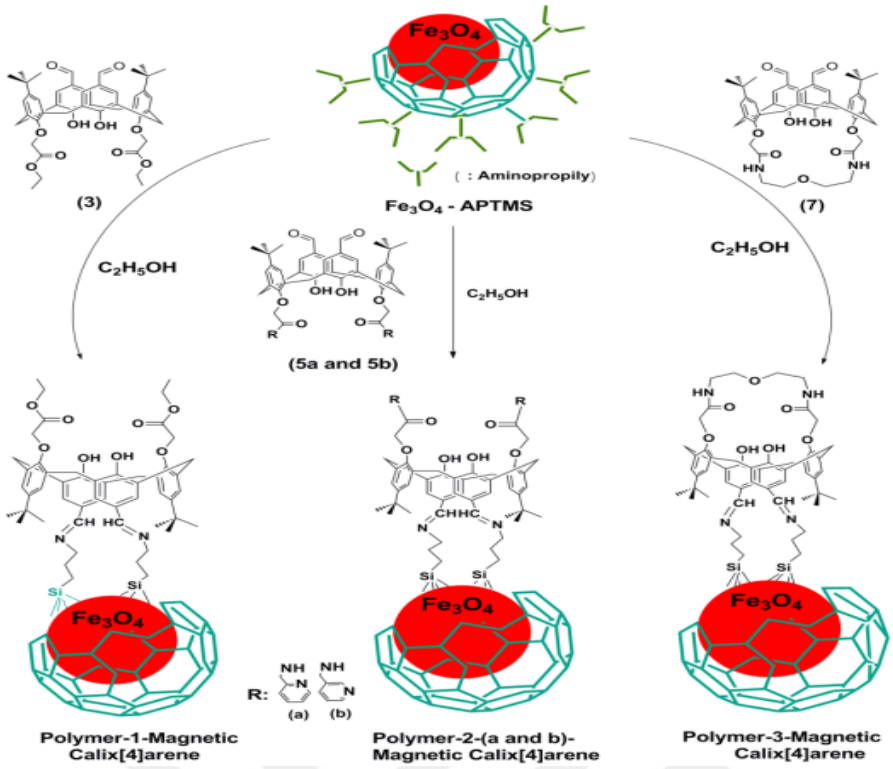
Özcan ve ark. magnetik kaliksarenlerin sentezi üzerine yapılan çalışmada; *p-tert*-bütilkalis[4]aren diesteri sentezlenerek, aminopropiltrimetoksi silan ile modifiye edilmiş magnetik Fe_3O_4 ile etkileştirilerek (Fe_3O_4-APTMS-MNP) manyetik özellikteki kaliks[4]aren bileşiği elde edilmişlerdir. Sentezlenen bu manyetik nanopartikül dikromat anyonunun ekstraksiyon çalışmasında kullanılmıştır (Ozcan ve ark., 2009a).



Şekil 2.18. Manyetik özellikteki kaliks[4]aren bileşiği

Sayın ve ark tarafından yapılan bir başka çalışmada ise kaliks[4]aren türevi para köşesinden Mannich reaksiyonuyla *N*-Glukalamin ile fonksiyonlandırıllıp silika ile modifiye edilmiş manyetik nanopartiküllere immobilize edilerek sulu çözeltilerden arsenat anyonunun uzaklaştırılmasın da kullanılmıştır (Sayin ve ark., 2010).

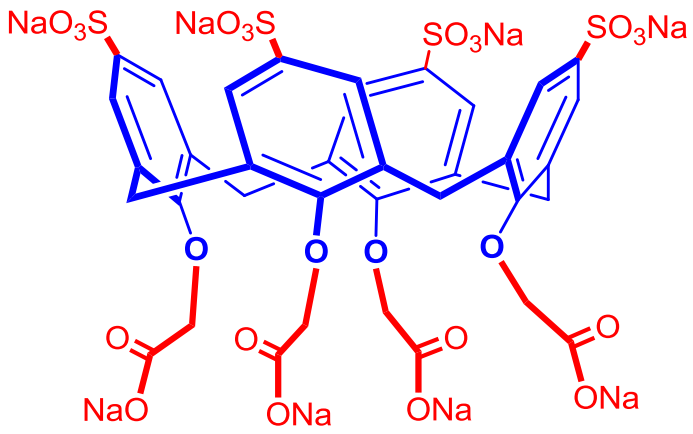
Ozcan yapmış olduğu bir diğer çalışmada ise fenolik gruplar üzerinden farklı fonksiyonel gruplara sahip kalik[4]aren bileşiklerini para pozisyonunda modifiye ederek Fe_3O_4 magnetik nanopartiküllerine immobilize etmiş, sonrasında aktif yüzeyleri serbest olan bu magnetik özellikli kaliks[4]aren bileşiklerini Uranil anyonunun giderilmesinde adsorban olarak kullanmıştır(Ozcan ve ark., 2015).



Şekil 2.19. Magnetik Fe_3O_4 nanopartiküllere immobilize edilen Kaliksaren bileşikleri

➢ Sensör olarak kaliksarenler

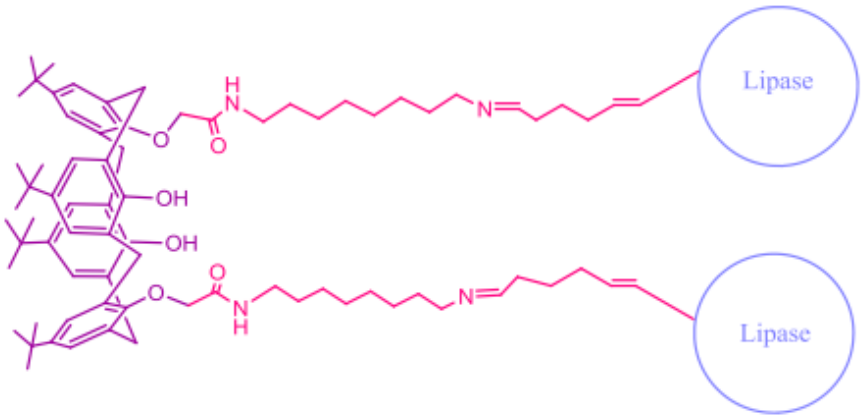
Kaliksarenlerle birçok sensör çalışması yapılmıştır. Okur ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada suda çözünen *p*-sülfanatokaliks[4]aren tetra karboksilat türevi sentezlenip nem sensörü olarak kullanılmıştır (Okur ve ark., 2010).



Şekil 2.20.sensör olarak kullanılan kaliksaren bileşiği

➢ **Enzim İmmobilizasyonunda Kullanılan Kaliksarenler**

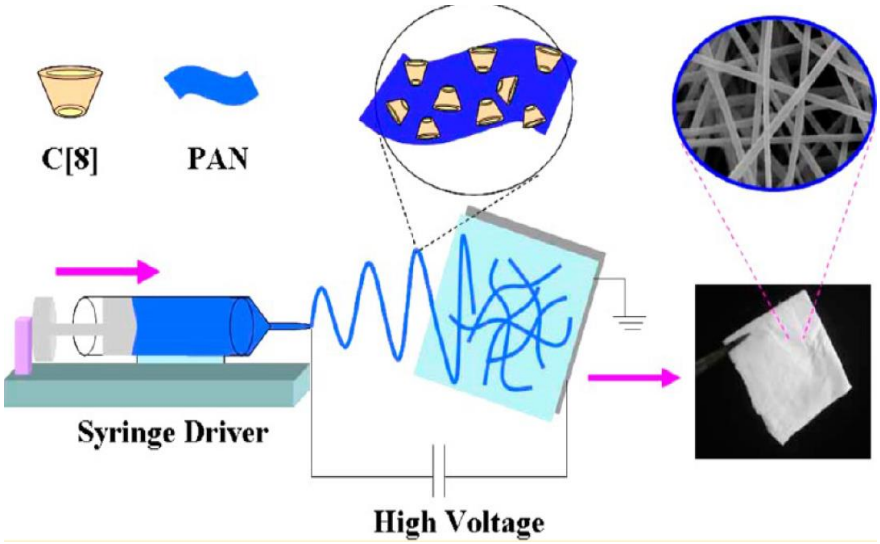
Ozcan ve ark. *p-ter*-butilkaliks[4]aren diester bileşiği ile 1,8-diaminooktan'ı etkileştirilerek elde edilen *p-ter*-butilkaliks[4]arenin diamino türevini glutaraldehitle tepkimeye sokulduktan sonra serbest dialdehit grubu bulunduran ve enzim immobilizasyonunda kullanılabilecek yeni bir linker sentezlemişlerdir (Şekil 2.22). Sentezlenen bu bileşik lipaz immobilizasyonunda kullanılmıştır (Ozcan ve ark., 2009b).



Şekil 2.21. Lipaz immobilizasyonunda kullanılan kaliks[4]aren türevi

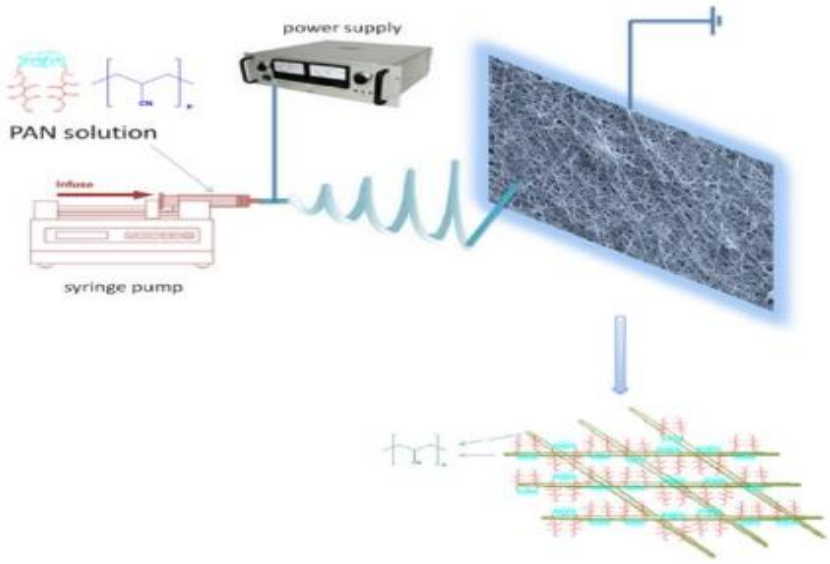
➢ **Kaliksarenlerin Nanofiber Olarak Kullanımı**

Chen ve ark. Yaptıkları çalışmada poliakrionitrili (PAN) elektrospin yöntemi ile fiber haline getirerek 670 nm çapında fiber elde etdikten sonra kaliks[8]aren, kaliks[8]aren diester ve kaliks[8]aren diamid moleküllerini daldırma yöntemi kullanarak kaliks[8]aren türevlerinin PAN fiberlerinin üzerine immobilizasyonu sağlamış olup, kaliks[8]aren türevlerin fonksiyonel uçlarından Congo red adsorpsiyonunda ve membran aplikasyonlarında kullanınmıştır (Chen ve ark., 2013).



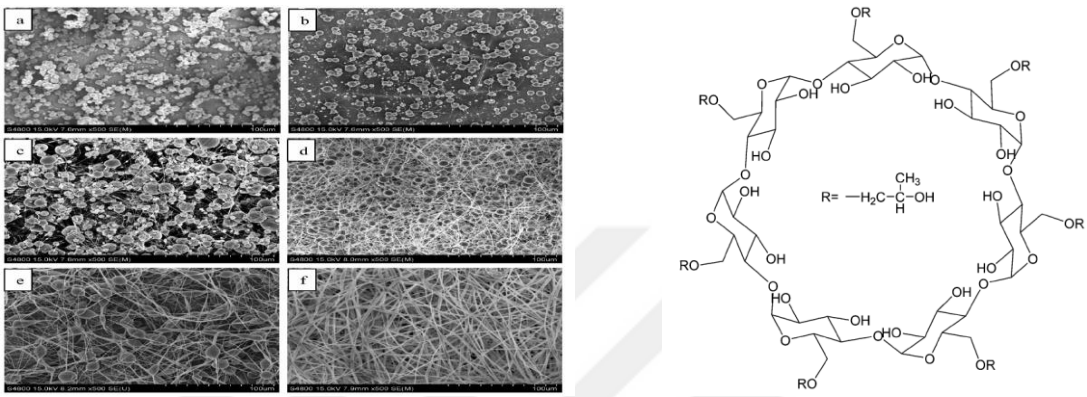
Şekil 2.22. Ester ve amit yapılı kaliksaren nanofiber yapıları

Özcan ve arkadaşları (Özcan ve ark., 2016) yaptıkları bir çalışmada N-metil glukamin birimleri ile modifiye edilmiş kalik[4]saren bileşiğinin poliakrilonitril destek katısı kullanılarak elektrospinleme tekniği ile fiberini çekmeyi başarmışlardır. Elde edilen yapıların karakterizasyonundan farklı nm çaplarında nanofiber yapılarının elde edildiği tespit edilmiştir. Kaliksaren içeren bu nanofiber yapılarının toksik anyon ve katyon bağlama yetenekleri kromat ve uranyuma karşı denenmiş ve elde edilen sonuçlardan bu yapıların yüksek oranda kromat ve uranyum adsorbe ettikleri bulunmuştur.



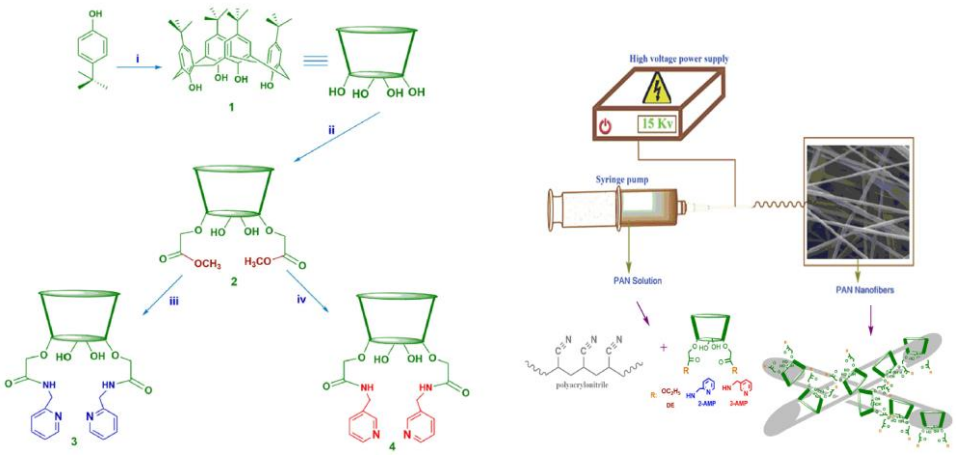
Şekil 2.23. N-metil glukamin birimleri içeren calix nanofiber yapıları

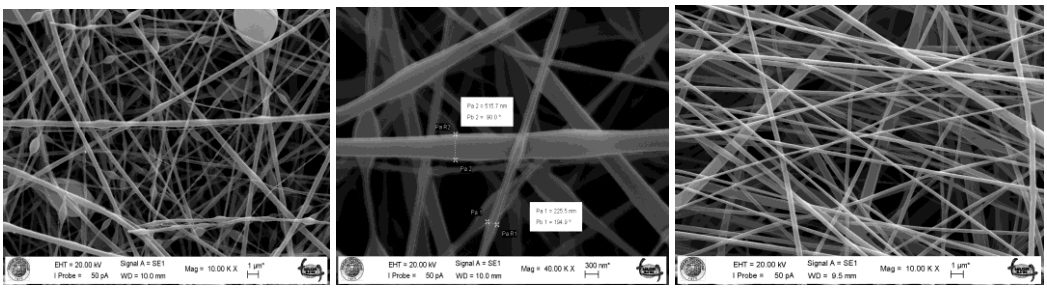
Zhang ve ark. yapmış oldukları çalışmada Hidroksipropil-Beta-Siklodekstrin (HPCD) bileşiginin DMF ortamında elektrospin yöntemi ile nanofiber çekimini gerçekleştirmiş olup, elde edilen HPCD nanofiber ile Neutral red absorpsiyonunda kullanmışlardır (Zhang ve ark., 2012).



Şekil 2.24. HPCD Siklodekstrin nanofiber gösterimi

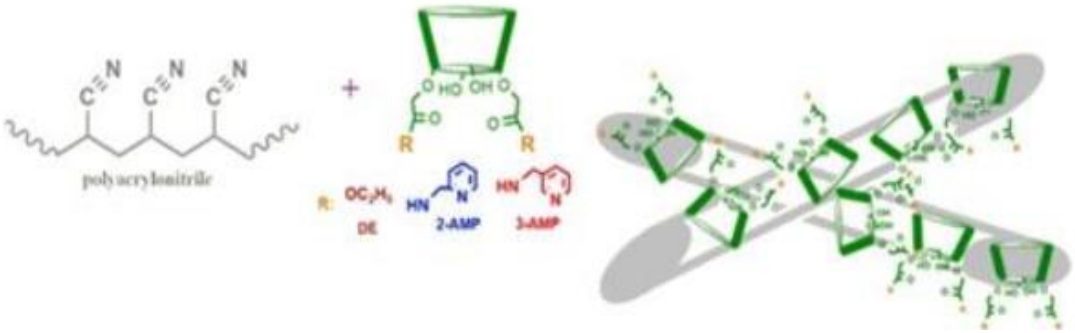
Grubumuz tarafından yaklaşık dört yıldır yürüttüğümüz çalışmalar sonucunda p-tert-bütil-Kaliks[4]aren diester ve diamid bileşiklerinin elektrosipin yöntemi ile fiber çekimi yapılmış olup, bu nanofiberler Dikromat ektraksiyonunda kullanılmış ve ektraksiyon kapasitelerinin oligomerlerine göre daha iyi olduğu görülmüştür (Bayrakcı ve ark., 2015).





Şekil 2.25. *p-ter*-bütil-kaliks[4]aren diester ve diamid bileşiklerinin sentezi ve nanofiber görüntüleri

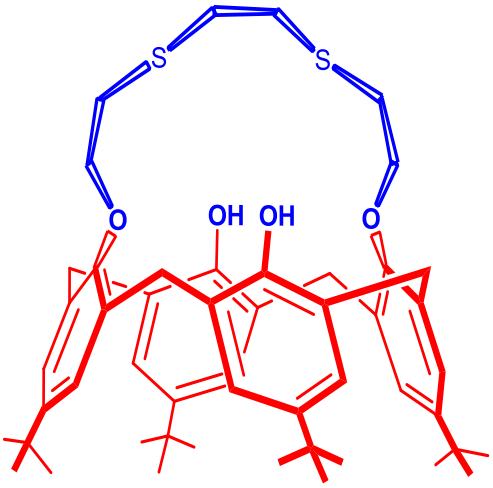
Bayrakcı ve Özcan yaptıkları bir çalışmada farklı pridin amit türevleri ihtiva eden kaliks[4]aren bileşiğinin yine poliakrilonitril destek katısı ile fiberini elde etmeyi başarmışlardır. Elde edilen fiber materyallerin saflaştırma alanında membran olarak kullanılabilirliği yapılan katı-sıvı ekstraksiyon yöntemi ile toksik kromat anyonuna karşı araştırılmış ve elde edilen sonuçlardan amit yapılı grupları içeren nanofiber membran yapısının güçlü bir adsorban olarak kullanılabileceği tespit edilmiştir (Bayrakcı ve ark., 2015)



Şekil 2.26. Pridin amit grupları içeren calix nanofiber yapıları

Elektrot çalışmalarında;

Demirel ve ark. tiyoeter birimi taşıyan kaliks[4]aren türevi sentezlenerek Ag^{+} seçimli elektrot yapımında kullanılmışlardır(Demirel ve ark., 2004).



Şekil 2.27. Gümüş seçimli Kaliksaren bileşiği

2.2.NANOTEKNOLOJİ

21. yüzyılda insan yaşamının her alanında nano devrimi görüldüğünden dolayı bu yüzyılı nano yüzyılı olarak adlandırabiliriz. Nanoteknoloji alanı, son yıllarda insan yaşamının daha iyi olması için farklı sektörlerde çok sayıda uygulamalarda kullanılarak dünya üzerinde hızlı bir şekilde büyümeye devam etmektedir. Nanoteknolojinin önemi, atomlar ve moleküller seviyesinde (1 ila 100 nanometre (nm) ölçüsünde) çalışarak, gelişmiş ve/veya tamamen yeni fiziksel, kimyasal, biyolojik özelliklere sahip yapılar elde edilmesine imkan sağlamasından kaynaklanmaktadır. Teknik açıdan açıklamak gerekirse malzeme özellikleri ve cihazların çalışma prensipleri, genel olarak 100 nm'den büyük boyutları temel alarak yapılan varsayımların sonucunda ortaya çıkarılmış geleneksel modelleme ve teorilere dayanmaktadır. Kritik uzunluklar 100nm'nin altına indiğinde ise geleneksel teori ve modeller ortaya çıkan özellikleri açıklamakta çoğu zaman yetersiz kalmaktadır. Nanoteknoloji işte burada resme girmektedir. Daha sağlam, daha kaliteli, daha uzun ömürlü ve daha ucuz, daha hafif, daha küçük cihazlar geliştirme isteği birçok iş kolunda gözlenen eğilimlerdir. Minyatürizasyon olarak tanımlanabilecek bu eğilim birçok mühendislik çalışmasının temelini oluşturmaktadır. Minyaturizasyonun sadece kullanılan parçaların daha az yer kaplamasından çok daha önemli getirileri vardır. Minyaturizasyon üretimde daha az malzeme, daha az enerji, daha ucuz ve kolay nakliye, daha çok fonksiyon ve kullanımda kolaylık olarak uygulamada kendini göstermektedir (Reeves ve ark., 2008).

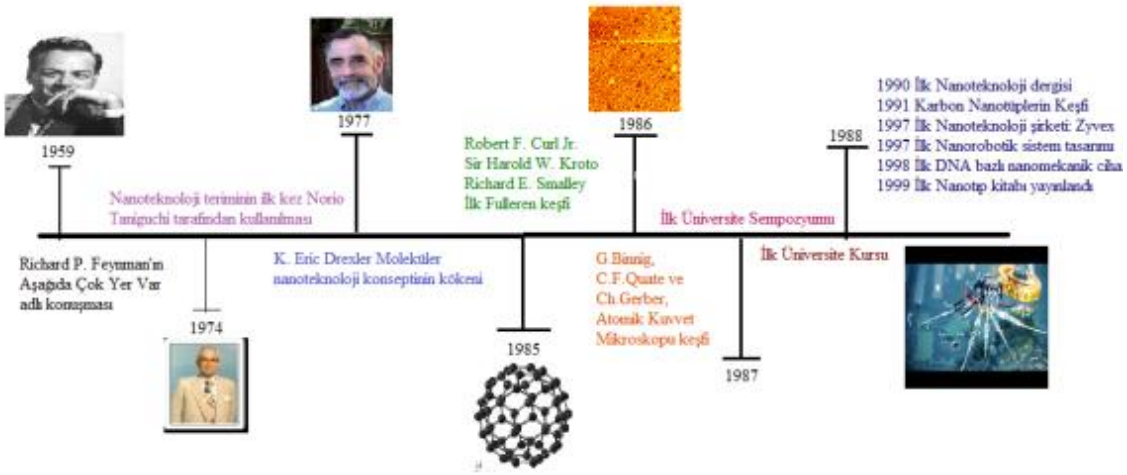
Nanoteknolojide önek olan nano bir Yunanca kelime olan dwarf (cüce) kelimesinden türetilmiştir. 1 nanometre, metrenin milyarda birine, 6 karbon atomunun veya 10 su molekülünün genişliğine eşittir. Đnsan saçı 80000 nm, bir kırmızı kan hücresi ise 7000 nm genişliğindedir. Atomlar 1 nm'den küçüktürler halbuki bazı proteinleri içeren çoğu molekül ise 1nm veya daha büyüktür.

2.2.1.Nanoteknolojinin tarihsel gelişimi

Materyallerin minyatürleştirilmesi mevhumunu ilk kez, meşhur, fizik alanında ihtissa yapmış Richard P. Feynman (1918-1988) düşünmüştür. Feynman, kuantum elektrodinamiği alanında meydana getirdiği performanslarda, 1965 senesinde Fizik Nobel ödülünü elde etmiştir. Feynman 1959 senesinin 29 Kasımında Amerikan Fizikçiler Derneği'nin senelik toplantısında "There's Plenty of Room at the Bottom- An Invitation to Enter a New Field of Physics; Aşağıda Çok Yer Var: Fiziğin Yeni Bir Alanına Çağrı Davet" levhası altında meydana getirdiği bildiri, nanobilim ve nanoteknoloji devrinin startınını verdiği şeklinde değerlendirilmektedir.

Feynman, ileride çok sayıda atomun beklenilen biçimde tertipleneceği tahmininde bulunmuş, Britanica Ansiklopedisinin kompe bütün ciltlerinin bir iğnenin ucu kadar küçültülebileceğini, lazım olan yegane şeyin ansiklopedi de yazan bütün yazıları 25.000 defa hacmini küçültmek olduğunu beyan etmiştir. Yine Feynman gezegenimizde o ana değin kazanılmış bütün bilgilerin, 35 sayfada bir araya getirebiliceğini savunmuş.

Nanoteknoloji, 70li yılların sonlarında ilerleyen sürecin anahtar teknolojileri arasında yerini almıştır. Nanoteknoloji terim şeklinde ilk kez Japon ilmi çalışma yapan Norio Taniguchi'nin "Nanoteknolojinin Temel Konsepti Üzerine (On the Basic Concept of Nanotechnology)" adı verilen yazısında dünyaya duyurulmuştur. Feynman tahmin içeren savları K. Eric Drexler'in 1985 senesinde neşredilen" Engines of Creation: The coming Era of Nanotechnology- Motorların Yaratılışı: Nanoteknolojinin Yaklaşan Çağı" adlı eserinde daha iyi kavranmıştır (mehta ve hunt, 2006). Drexler, atomlarla, canlı hücrelerden defalarca daha küçük, var olan makinalardan çok daha kuvvetli ve hafif ve kendi kendini kopya eden nanoölçek düzesinde makinalar imal edilebileceğini savunmuştur (Drexler, 1986).



Şekil 2.28. Nanoteknolojinin tarihsel gelişimi

1981'de Heinrich Rohrer ve Gerd Karl Binning, elektron mikroskobuyla tespit edilemeyen atom parçacıklarını 2000 defa büyütme niteliği ile büyüterek atomik ölçekte çözünürlük gerçekleştiren Tarama Tünel Mikroskobu icat ettiler. devamında 1986 senesinde; G.Binnig, C.F.Quate ve Ch.Gerber, Atomik Kuvvet Mikroskopu'nu icat ettiler. Heinrich Rohrer ve Gerd Karl Binning, Tarama Tünel Mikroskobu'nun icdı sayesinde Nobel fizik ödülünü kazandılalr.

1991 senesinde Japon uzman Sumio Lijima, 1985'te icat edilen karbon nanotüpleri imal etmiştir. Yine 1986 senesinde icat edilen Atomik Kuvvet Mikroskopu (AFM) ilk defa canlı hücreler üstünde kullanılmış, antikorların tesirleri ile canlı alyuvarların tuzluluk değişimleri tespit edilmiştir.

2006'daysa kansere karşı ilaç dağıtımı adına nanoparçacıklar sayesinde bedenin belli kısımlarına müdahil olma hüneri ilerletilmiştir. Bu mevzuda Harvard Tıp Fakültesi, MIT, Harvard Kanser Nanoteknoloji Mükemmeliyet Merkezi ve Gwangju Bilim ve Teknoloji Enstitüsü (Kore)'nden ilim insanları, nanoparçacıkların kanser iyileştirmesinde faydalanıldığını beyan etmiştir.

2.2.2. Nanoteknoloji Kullanım Alanları

2.2.2.1. Yüzey uygulamalarında nanoteknoloji

Kullanılacak araç gereçlerin canlısal tesirlenme, sürtünme, yapışma, suyu sevme yahut sevmeme ve benzeri "Yüzey nitelikleri" nanometre ebatlarındaki zirvedeki katmanların kimyevi durumu ile morfolojisince tespit edilmektedir. Yüzeysel

niteliklerin denetimi ve rasyonal bir biçimde kullanımı destekleyen teknoloji nanoteknolojidir (Dinç, 2013).

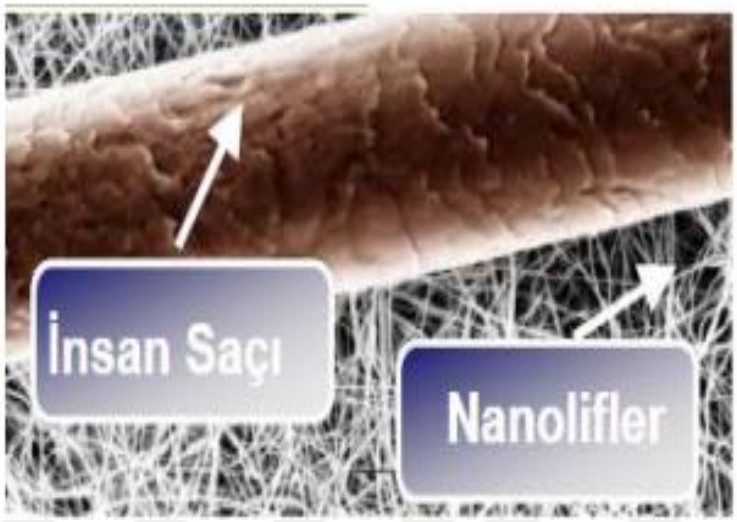
Nanoteknolojiyi tatbik etme durumları mevzubahis olduğunda olduğunda yüksek maliyetli ve ultra yüksek vakumu elzem kılan cihazlar (UHV), yüksek ısı değerleri ya da nanometre ebatlarındaki litografi yapabilen aygıtlar ilk akla gelenler arasındardır. Ancak tabiatta malzemelerin imal edilmesi ve kimyevi pek çok tepkime oda sıcaklığında ya da olağan şartlarda meydana gelir. Mesela tabiatta var olan lotus bitkisi yaprakları üstündeki nano ebatta olan pürüzlülük nedeniyle üstündeki kir, su, yağ ve benzeri maddeleri barındırmaz. İlim insanları da bu durumdan yola çıkarak nano ebattaki materyallerin üstlerinde pürüzlülük meydana getirerek su barındırmayan öz hijyenini kendisi sağlayan kumaşlar, hidrofobik araba camları gibi sayısız madde imal etmişlerdir



Şekil 2.29. Lotus yaprağındaki su damlacıklarının görünümü yansıtan bir fotoğraf (Dinç, 2013)

2.3.NANOFİBERLER

Çapı bir mikron ve altındaki fiberler şeklinde belirtilebilir. Halen türlü imal etme metotları sayesinde pek çok seramik ve polimer malzemelerden nanofiber imali yapılabilir. Türlü metotlar sayesinde polimer solüsyonundan, polimer eriyiğinden mikro metrenin aşağısındaki ebatlarda imal edilen liflere nanolif adı verilmektedir (Seeram ve ark., 2005).



Şekil 2.30. Nanofiber boyutu ile insan saçının karşılaştırılması

2.3.1.Nanofiberlerin kullanım alanları.

Elektrospin metoduyla türlü türlü malzeme imali gerçekleştirilebilir. Bu durumun en mühim nedenlerinden biri de kuşkusuz bahsettiğimiz metotta tercih edilen polimer türünün fazla olmuş olmasıdır. Neticesinde bu metotla imal edilmiş nanofiberlerin tercih edilme sahası da önemli bir büyüklüğe sahiptir. Yine nanofiberlerden meydana getirilen yapıların, birim ağırlıkta gerçekleştirilen büyük saha niteliği, iyi mukavemet/birim ağırlık vb hususiyetleri, nanofiberlerin kompozit tatbik edilmeleri, filtrasyon membran oluşturulmasında, savaş endüstri, biyomedikal materyaller ile doku mühendisliği gibi pek çok sahada tercih edilmesinin ana nedenleri arasında gösterilebilir.

2.3.1.1.Nanofiberlerin Kompozit Uygulamaları

Ultra ince elektrospun lifleri, uzun fiber kompozit materyallerin üretimi için açık potansiyel gösterir. Uygulama, makul bir zaman ölçeğinde büyük ölçekli makalelerin yapılması için yeterli miktarda lif yapımında zorluklarla sınırlıdır. Bu nedenle, nispeten az miktarda lif gerektiren tıbbi uygulamalar, elektrospun elyaf takviyeli malzemeler için popüler bir uygulama alanıdır. Elektrospinning, yapay insan dokularının üretimi için

maliyet etkin, kolay üretilebilir yara sargıları, tıbbi implantlar ve iskeleler kaynağı olarak araştırılmaktadır. Bu iskeleler doğal dokudaki hücre dışı matris ile benzer bir amacı yerine getirir . Polikarbrokton gibi biyobozunur polimerler, bu amaçla tipik olarak kullanılır. Bu lifler daha sonra kolajenin başarılı bir şekilde zarlara doğru bükülmesine rağmen, hücre bağlanmasını desteklemek için kolajen ile kaplanabilir.

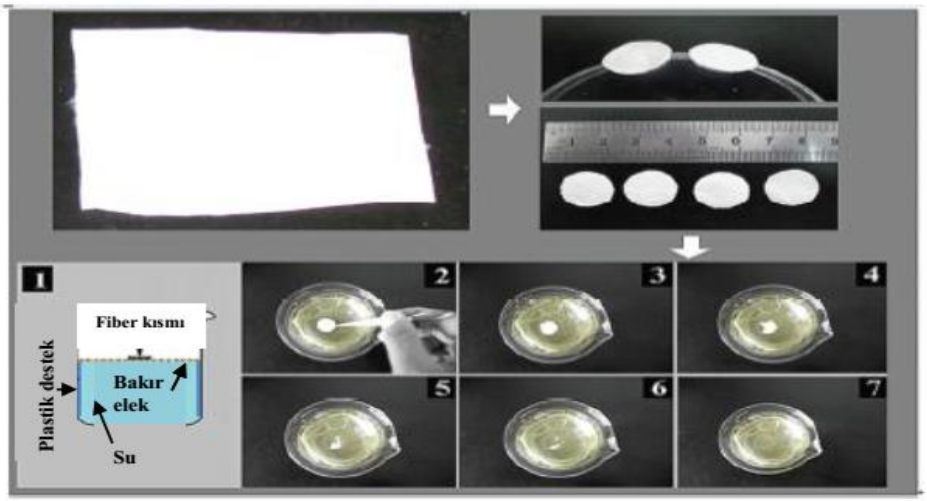
Ayrıca nanofiberle kuvvetlendirilmiş kompozitler ananevi mikrofiberli kompozitelerde belli olmayan kimi olumlu özellikleri bünyesinde barındırır (Dinç, 2013).

2.3.1.2.Tıbbi protezler

Kan damarlarına benzeyen şekilde yumuşak doku tatbik etme stillerinin pek çoğu adına elektrospin yoluyla imal edilen nanofiberler tavsiye edilmektedir. Bunun gibi biyo uyumlu nanofiberler sert doku protezi üstüne ince gözenekli film biçiminde yerleştirilirler ve beden içine implante edilebilirler. Bahsettiğimiz kaplama film insan dokusuyla protez cihazı arasında bir süre faz olarak çalışır ve doku ile cihaz arasındaki katılık uyumunu gerçekleştirilir(Dinç, 2013)

2.3.1.3.İlaç salımı uygulamaları

Polimerik nanofiberlerle ilaç salımının temeli hem ilaç hem de ihtiyaç duyulduğunda taşıyıcı yüzey alanının çoğaltılması ile parçacıkların çözünme hızının arttırılması prensibine dayanır (Dinç, 2013).



Şekil 2.31. Elektrospin yoluyla imal edilmiş süratli çözünen ilaç salım membranı (Dinç, 2013) .

2.3.1.4.Yara örtü malzemesi

Nanofiberler, kişinin derisindeki yanıkların ve yaraların iyileştirilmesinde de tercih edilmektedir. İnsandaki yara yapısı gereği akıntı imal eden bir özelliğe sahip olduğundan, bu tür fiberlerin gözenek içeren yapıya sahip olmaları olumlu katkıya neden olur. Bu tarz bir yüzey yaranın kurumasının önüne geçerken, yaranın suyunun dışarıya akıtılmasını ve tabakanın altında birikmemesine neden olur. Ayrıca ek olarak, harika oksijen ve hava iletimi, enfeksiyona neden olan bakterilerin önüne geçmesi tarzında mühim niteliklere haizdir (Dinç, 2013)



.

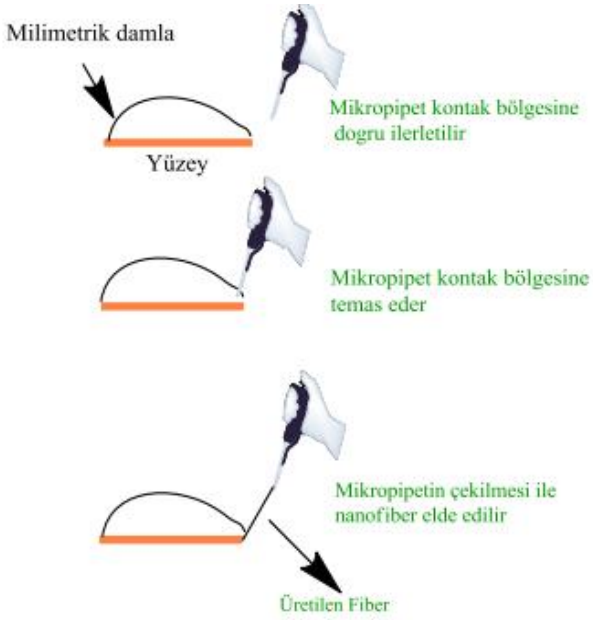
Şekil 2.32. Yara örtüsü olarak kullanılan nanofiberlerin tatbik edilmesi

Dolayısıyla bilhassa deride oluşan yanıklarda DBC polimeri yara örtü maddesi şeklinde tercih edilmektedir. DBC polimerinden film eldesi adına son kullanılan yol şeklinde elektroeğirme yöntemi tavsiye edilmektedir (Dinç, 2013).

2.3.2. Nanofiber üretim yöntemleri

2.3.2.1.Çizme yöntemi

Çizme metodunda birkaç mikrometre yarıçapa haiz mikropipet desteğiyle işlevini yerine getirir. Mikropipet mikro manipülatör desteğiyle polimer damlacığına daldırılır ve mikro-pipet damlacıktan aşağı yukarı 10-4 m/s süratle yukarı çıkarılır. Böylece fiberler bir yüzeyde bir araya gelir. (Süslü, 2009).



Şekil 2.33. Çizme metoduyla nanofiber i imal edilmesi

2.3.2.2.Faz Ayırma

i) çözme: münasip bir çözücü sayesinde polimer çözülür.

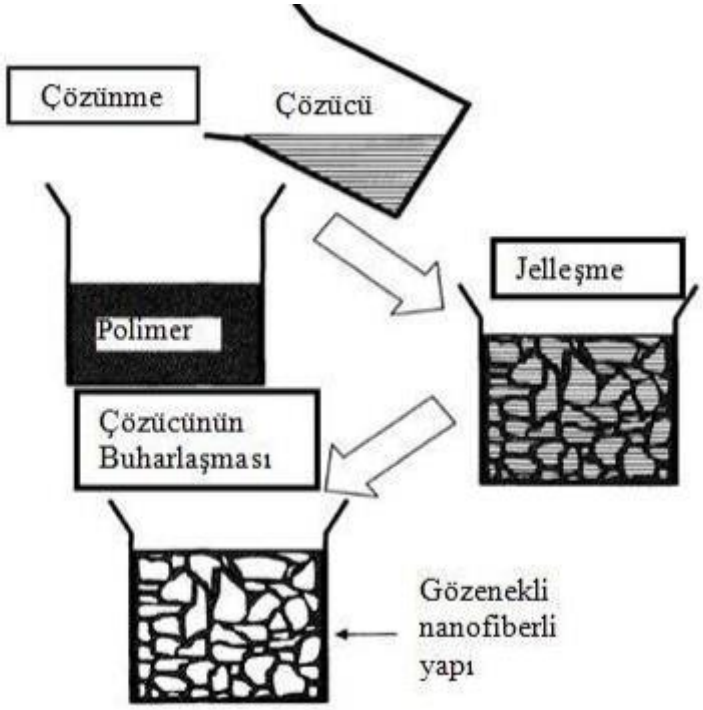
ii) Jelleşme: yapmak için münasip kimyevi materyaller ilave edilir, sonra jelleşmenin hayata geçmesi adına teflon şişeye konulup buzdolabında
beklemeye alınır.

iii) Çözücü uzaklaştırma: bunun olması adına teflon şişe saf suyun içine yerleştirilir ve 2 gün bekletilir. Bu sürede saf su günde 3 kez değiştirilir.

iv) Dondurma: Su içindeki jel dışarı çıkarılır ve kâğıt süzgeç desteğiyle süzülür,

donmanın gerçekleşmesi adına -18°C de 2 saat bekletilir.

v) Soğuk kurutma: Donmuş olan jel soğuk kurutma kanallarına aktarılır ve -55°C de 7 gün süreyle beklemeye alınır (Süslü, 2009).



Şekil 2.34. Faz ayırma metoduyla fiber imal edilmesi

2.3.2.3.Elektrospin sistemi

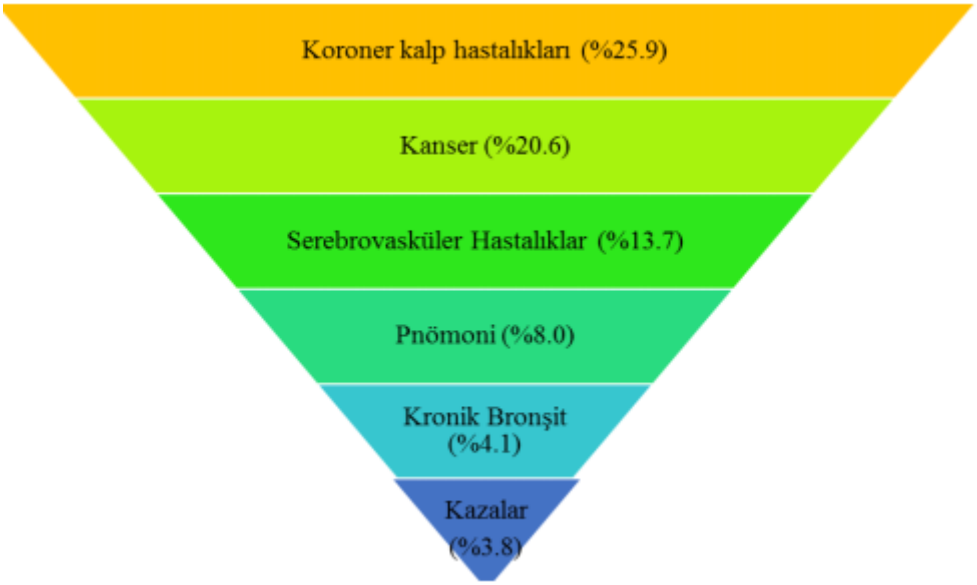
Elektrospinning, nanofiberlerin elektrostatik üretimi için yaygın olarak kullanılan bir tekniktir; bu esnada elektrik enerjisi, polimer çözeltilerden veya eriyiklerden 2 nm'den birkaç mikrometreye kadar değişen çaplarda polimer elyafı yapmak için kullanılır. Bu süreç, çok yönlülüğü ve diğer standart teknolojileri kullanarak ulaşılması güç olan nanometre ölçeğinde sürekli olarak lif üretme kabiliyeti nedeniyle dikkat çeken önemli bir odak noktasıdır (Li ve Xia, 2004).



Şekil 2.35. Elektro spin metoduyla nanofiber imalinin şematik görsel

2.4. KANSER

Kanser, hastalıklara bağlı ölüm nedenleri arasında kalp krizi ve yetmezliğinden sonra ikinci sıradadır ve tüm ülkeler için önemli bir halk sağlığı sorunudur. Kanser hücreleri, normal vücut hücrelerinden farklıdır. Normal vücut hücreleri sistemli bir şekilde büyür, bölünür ve ölür. Eğer yeni hücreler gerekmiyor ise her hücrenin içinde mevcut mekanizmalar, hücreye bölünmeyi durdurmasını söyler. Buna karşın kanser hücreleri büyümeye, bölünmeye bağımsız ve kontrolsüz biçimde devam ederler, vücudun diğer bölgelerine yayılırlar, birikerek tümörleri oluştururlar. Tümörler normal dokuları sıkıştırabilir, dokuların içine sızabilir ya da onları tahrip edebilirler. Kanser hücreleri oluştukları tümörden ayrılarak kan ya da lenf dolaşımı aracılığı ile vücudun diğer bölgelerine yayılabilirler. Kanserin bu şekilde vücudun diğer bölgelerine yayılmasına “metastaz” denir (Reya ve ark., 2001).



Şekil 2.36. Dünyada en sık görülen ölümcül hastalıkların % ölüm sıralaması

2.4.1.Kolorektal Kanserler

Bütün kanser türleri arasında kolorektal kanserler bayanlarda ve erkeklerde en sık görülen üçüncü kanser türüdür. 2013 yılında sadece Amerika Birleşik Devletleri'nde kolorektal kanserlerde 102,480 yeni vaka ve 40,340 ölüm beklenmektedir. Kolorektal kanserin tedavisinde sıklıkla kullanılan yöntem ameliyattır. Özellikle yayılma göstermemiş tümörler cerrahi müdahale ile temizlenmektedir. Bununla birlikte çevre dokulara yayılma göstermiş hastalarda cerrahi müdahale ile birlikte kemoterapi ve radyoterapi uygulanmaktadır. Uygulanan bu yöntemler sayesinde kolorektal kanserlerde 1 yıllık hayatta kalma oranı %84, 5 yıllık hayatta kalma oranı %64 iken 10 yıllık hayatta kalma oranı ise %58'e düşmektedir (artuk ve ark., 2013).

Kolon kanserlerinin neredeyse tamamı kolon ve rektum duvarında oluşan benign poliplerin zamanla malignant hale dönüşmesiyle ortaya çıkar. İlk aşamalarında herhangi bir belirtisi yoktur, ancak tarama yöntemleriyle tespit edilebilir. İlerleyen aşamalarda karın ağrısı, rektal kanama, iştah kesilmesi ve kilo kaybı gibi belirtiler gösterir. Tedavi, hastalığın aşamasına bağlı olarak sadece cerrahi müdahale ile kanserli dokunun uzaklaştırılmasıyla yapılırken ileri safhalardaki hastalarda cerrahi müdahalenin yanı sıra kemoterapi ve radyoterapi uygulamaları da yapılmaktadır. Hastalığa yakalanma riski yaşla birlikte artmaktadır. Bunun haricinde yaşam tarzı ve beslenme alışkanlıkları hastalığın gelişmesinde etkilidir. Obezite, fazla kırmızı veya işlenmiş et tüketimi, alkol

kullanımı, yağ oranı yüksek veya lif oranı düşük diyetler hastalık riskini arttıran etmenlerdendir (Anonim 2012, American Cancer Society, 2013)

2.5.Hücre canlılığı testi

2.5.1.Trypan blue canlılık testi

Trypan blue canlılık testi umumiyetle hücre ayırma, dondurma ya da çözme vb. durağan şekilde travmatik bir işlemin ardından canlı kalan hücrelerin oranını ölçmek adına araçsallaştırılır. Pek çok canlılık testi membran bütünlüğünün tahrip olarak hücrenin, olağan hallerde geçirgen olmadığı bir boyayı alması ilkesine mesnet eder. Bu yöntemin ana ilkesi, canlı hücreler boyayı almazken ölü hücrelerin almış olmasıdır. Hücre süspansiyonu trypan blue sayesinde dilüe edildiğinde canlı hücreler küçük, yuvarlak ve refraktil şeklinde görünümleri tespit edilir. Ölü hücreler sis, büyük ve koyu mavi duruma bürünürler. Her iki hücrenin toplam sayısı mililitre basına ve canlı hücrelerin yüzdesi olarak tespit edilmesi mümkündür (Dhir ve ark., 2000).

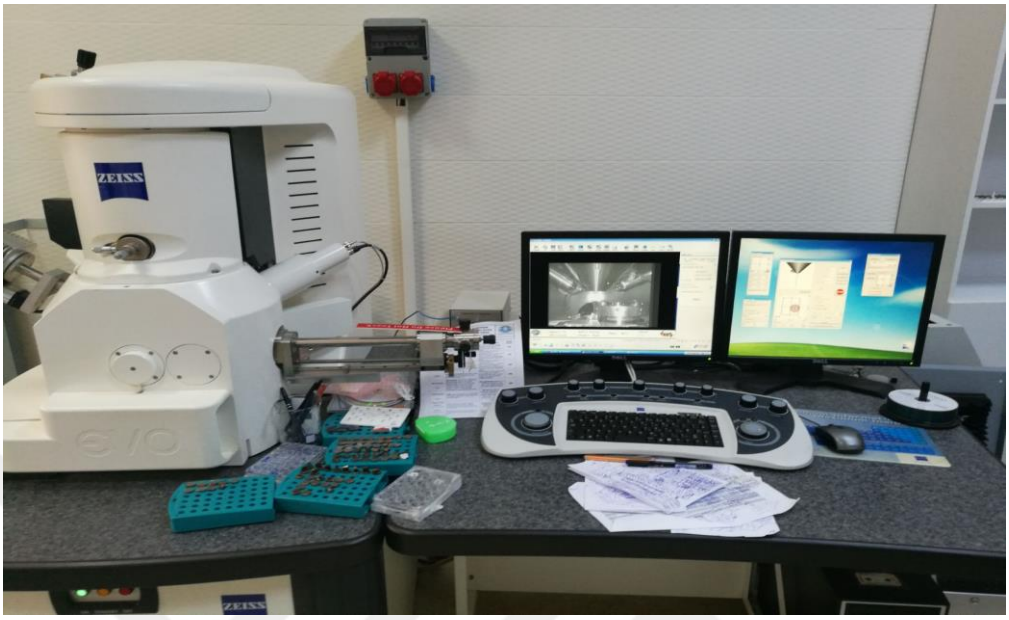
2.5.2.XTT

Metabolik aktivitenin ölçümüne dayalı hücre proliferasyon testlerinde yaygın olarak 2,3-Bis(2-metoksi- 4-nitro-5-sulfofenil)-2H-tetrazolyum (XTT) tercih edilmektedir. Perfornams ilkesi, başta proliferasyona maruz kalan hücrelerin yükselen dehidrojenaz enzim aktivitesi sayesinde tetrazolyumu sayesinde formazan (mor) boya imal etmesi neticesi meydana gelen renk farklılaşmasının absorbans şeklinde ELISA okuyucu ve ya spektrofotometre sayesinde ölçülmesine dayalıdır

2.5.3.Taramalı Elektron Mikroskobu - SEM (Scanning Electron Microscope)

Çok küçük bir alana odaklanan yüksek enerjili elektronlarla yüzeyin taranması prensibiyle çalışır. Manfred von Ardenne öncülüğünde 1930'lı yıllarda geliştirilmiştir. En sık kullanıldığı biçimiyle, yüzeyden yayılan ikincil (secondary) elektronlarla yapılan ölçüm, özellikle yüzeyin engebeli (topografik) yapısıyla ilişkili bir görüntü oluşturur. SEM, birçok dalda araştırma-geliştirme çalışmalarında kullanımı yanında, mikro elektronikte yonga üretiminde, sanayinin değişik kollarında hata analizlerinde, biyolojik bilimlerde, tıp ve kriminal uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. İlk ticari

taramalı elektron mikroskobu 1965'de kullanılmaya baslanmış, bundan sonra teknik gelişmeler birbirini izlemiştir.



Şekil 2.37. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve SEM ile görüntülenen nanofiber

Tüm katı malzemelerin mikro ve nano ölçekte yapılarını tayin edebilen ve bu yapıların elementel analizini yapabilen elektron mikroskobu (SEM) tüm endüstri sektörlerinde faklı tekniklerle üretilen ya da aynı teknikte farklı firmalar tarafından üretilen malzemelerin karşılaştırılmasında kullanılır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

p-ter-bütil fenol	(Merck)
Formaldehit	(Merck)
Difenileter	(Merck)
Asetik asit	(Merck)
Sodyum hidroksit	(Merck)
Toluen	(Merck)
4-pentenoil klorür	(Aldrich)
10-undekenoil klorür	(Aldrich)
İkinci nesil Hoveyda-Grubbs katalizörü	(Aldrich)
Sodyum karbonat	(Merck)
Magnezyum sülfat	(Merck)
Diklorometan	(Merck)
Etil asetat	(Teknik)
Metanol	(Merck)
Aseton	(Merck)

3.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar

1. Isıtıcılı manyatik karşıtırıcı	ARE 10 kademeli karıştırıcı 0-350 ◦C arası ısıtma
2.Elektronik hassas terazi	Precisa XB 220 A
3. Vakum pompası	Brook Crompton iki kademeli yüksek vakum pompası
4. Vakum etüvü	Nüve EV 018 (-769mmHg) Vakummetre (250 °C)
5. NMR spektrofotometresi	Varian 400 MHz
6.FT-IR	Fourier transform infrared spektroskopi
7.SEM	T aramalı Elektron Mikroskobu
8.İTK	İnce Tabaka Kromotoğrafisi
9. Laminar kabin (Biyogüvenlik seviyesi 2)	Tezsen
10.Otoklav	Hirayama HV-50L
11.Steril çalışma kabini	
12. CO_2 inkübatörü yada CO_2 tankı	
13. İnverted mikroskobu □	

14. Santrifüj	Rotofix II
15. Sıvı azot tankı	Cryopal
16. Mikroplaka okuyuculu spektrofotometre	Biotek-Epoch
17. Su banyosu	Memmert WB14
18. Otomatik Hücre Sayımı Cihazı	Luna Automated Cell Counter (Logos model: L10001)
19. Buzdolabı (+4°C)	Arçelik 5231 NFY
20. CO_2'li inkübatör	Thermo-Scientific Heracell 150i
21. Derin dondurucu (-20 °C)	Arçelik 2041 D
22.Derin dondurucu (-80 °C)	
23. Ayarlanabilir otomatik pipetler (0,1-2,5 µL; 0,5-10 µL; 2-20 µL; 20-200 µL; 100-1000 µL)	Eppendorf
24. Ayarlanabilir 8 kanallı pipetler (1-10 µL; 30-300 µL)	Eppendorf
25. Ayarlanabilir 8 kanallı otomatik dispenser pipet (30-300 µL)	Eppendorf
26. Ayarlanabilir 8 kanallı otomatik dispenser pipet (30-300 µL)	Eppendorf

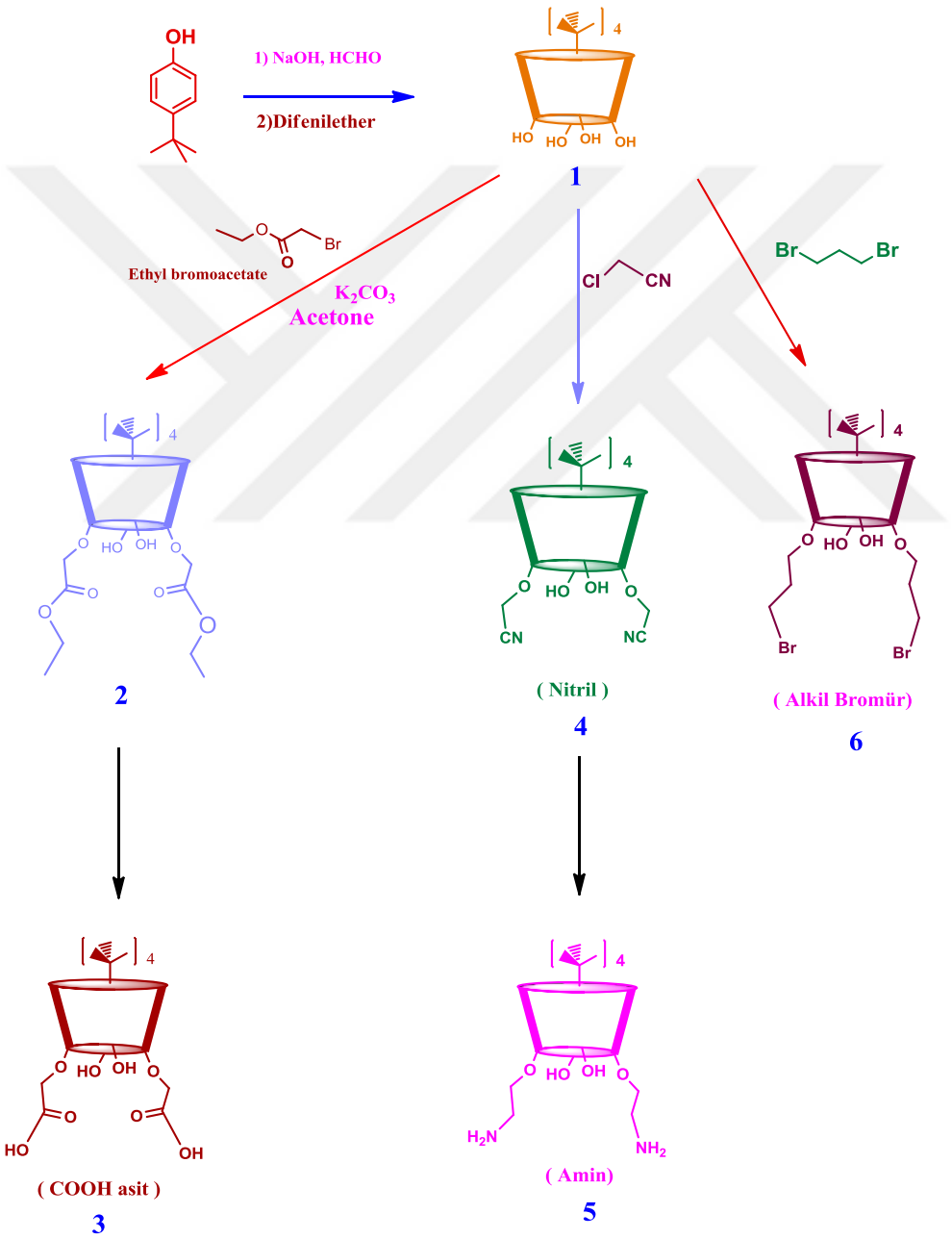
3.3. Kimyasal Sentezler

Yaptığmız bu tez çalışmasında sentezlenen bileşikler kaynaklardaki metodlara göre yapılmış olup, sentezlenen bileşiklerin (1-6) sentez metodları aşağıda verilmiştir

3.3.1.Farklı Fonksiyonel Uçlarasa sahip *p-ter*–bütilkaliks[4]arenler diester,Amin Alkil bromür,Nitril,Karboksilik asit bileşiklerinin Sentezi

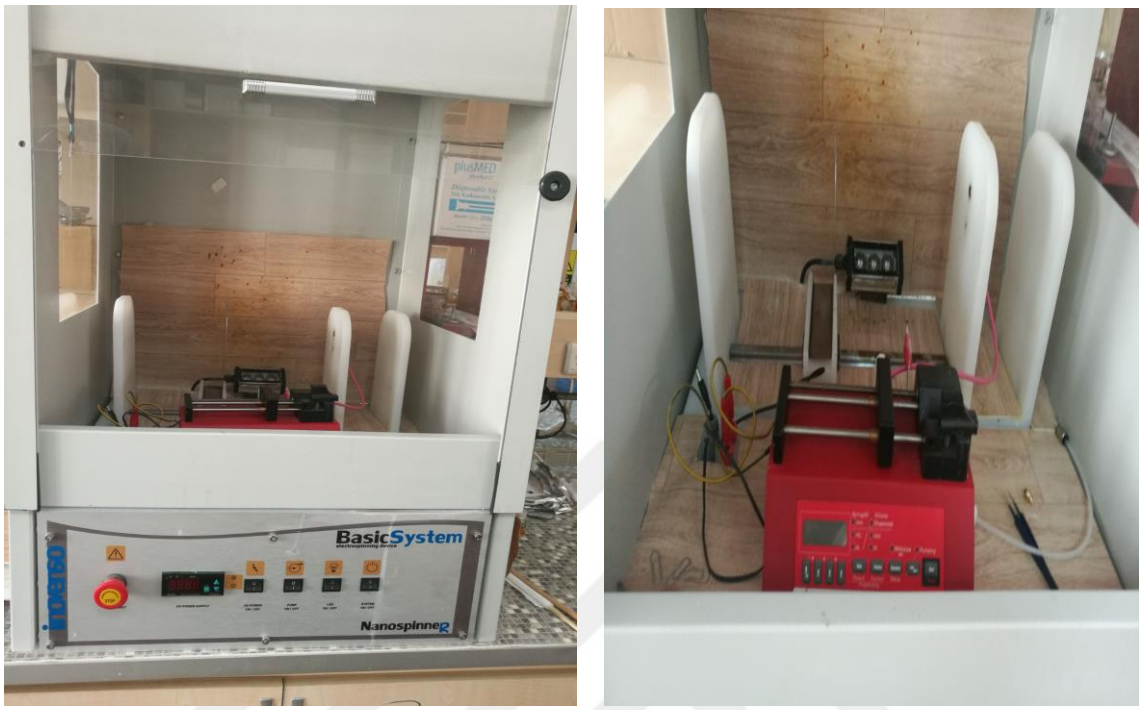
Şekil 3.1. de görüldüğü gibi *p-ter*-bütilfenolden çıkarak *p-ter*-bütilkaliks[4]aren **(1)** sentezlendi, sonra etilbromasetat ile uygun koşullarda reaksiyona sokularak *p-ter*-bütilkaliks[4]aren diester **(2)** bileşiği elde edildi. Bu bileşik **(2)** asidik ortamda hidroliz edilerek *p-ter*-bütilkaliks[4]aren dikarboksilik asit **(3)** bileşiği yapıldı. Yine *p-ter*-bütilkaliks[4]aren **(1)** bileşi kloroasetonitril bileşiği uygun reaksiyon şartlarında

etkileştirilerek *p-ter*-bütilkaliks[4]aren dinitril **(4)** bileşiği elde edildi, **Bileşik 4** indirgenerek *p-ter*-bütilkaliks[4]aren Diamin **(5)** bileşiği elde edilmiştir. Diğer tarafdan *p-ter*-bütilkaliks[4]aren **(1)** bileşiği 1-3,dibromopropil ile uygun reaksiyon şartlarında etkileştirilerek *p-ter*-bütilkaliks[4]aren Bis-propilbromür **(6)** bileşiği elde edilmiştir. Sentezlenen organik bileşiklerin yapısı spektroskopik teknikler kullanılarak (^{1}H-NMR , FTIR) aydınlatılmıştır.



Şekil 3.1. Diester ,nitril ,karboksil asit,diamin alkil bromür adlı kaliks[4]arenlerin sentezi

3.4. Elektrospin yöntemi ile sentezlenen *p-ter*– bütil kaliks[4]aren bileşiklerinin (2-6) nanofiberlerinin üretimi



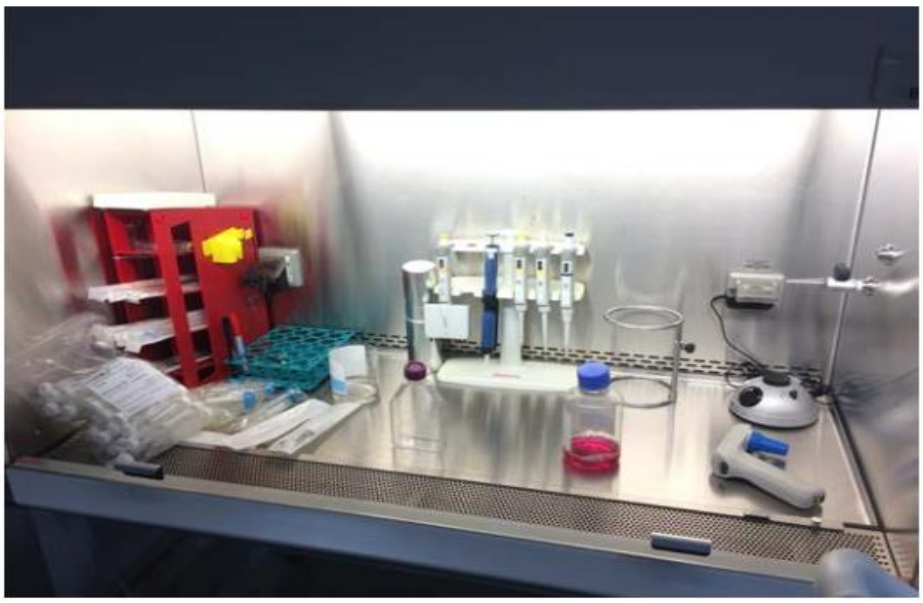
Şekil 3.2. Elektrospin prosesi

Elektrospinleme düzeneği Şekil 3.2'de görülmektedir. Bu sistemin başta 3 bileşeni mevcuttur: **(i)** ileri düzeyde yüksek voltajlı güç menbağı, **(ii)** kapiler tüp ve **(iii)** metal materyalden meydana getirilmiş toplaç. Kapiler tüp içinde spinlenecek çözelti mevcuttur ve bahsettiğimiz çözelti kuvvet menbağından gelen metal elektrota temas etmektedir. Metal toplaç ile kapiler tüp arasına uygulanan yüksek voltaj kritik değere ulaştığında, tüpün ucunda asılı bir damlacık olarak duran çözelti, jet biçiminde ve elektriksel olarak yüklenmiş olarak toplaça doğru hareket etmeye başlar. Tüp ucundan çıkan jette elektrostatik itme kuvvetlerinden dolayı kıvrılma hareketi gözlenir. Bu jet, kıvrılma hareketinin ve jet içindeki çözücünün buharlaşmasıyla incelir ve toplaçta nanoboyutta rasgele olarak lifler (fiber) halinde birikir.

3.4.1.Nanolif Yüzey Sterilizasyonu

İto yüzeyine kaplı Nitril (-CN), Amin ($-NH_2$), Karboksilik asit (-COOH) ve Alkil Bromür (-Br) taşıyan *p-ter*-bütilkaliks[4]aren nanofiberler,deneylere başlamadan önce sterilizasyonu yapılmıştır. Bunun için öncelikle 24 kuyucuklu plakaya Nitril (-CN),

Amin ($-NH_2$), Karboksilik asit (-COOH) ve Alkil Bromür (-Br) nanofiberler yerleştirilmiştir.Ardından en az 2 saat UV de bekletilmiş ve hücre ekimine hazır hale getirilmıştır.



Şekil 3.3. Caco-2 hücre hattının ekime hazır hale getirilmesi

3.5.Biyolojik uyumluluk testleri-model uygulamaları

3.5.1.Caco-2 hücre hattı

Bu çalışmada epitel ve yapışkan bir hücre hattı olan Caco-2 hücreleri, 72 yaşında beyaz ırk bir erkek hastanın kolon epitel dokusundan elde edilmiştir.Caco-2 hücreleri %20 Fbs% 2 mM L-glutamin, içeren RPML besyeri ortamında üretilerek 37°C'de %5 CO_2 içeren etüvde inkübe edilmiş, pasajlanmış ve sonraki çalışmalar için dondurulmuştur. Her deney için ihtiyaç duyulan hücre sayısına ve yoğunluğuna ulaşılana kadar hücreler pasajlandı ve daha sonraki çalışmalar için tekrar dondurulup (<-150 °C sıvı azot buharında) saklanmıştır.

3.5.2.Hücrelerin çözdürmesi

Dondurularak muhafaza edilen hücreler bir performansta tercih edilmeden önce azot tankından ya da - 80^{o}C' lik soğutucudan çıkarılır ve ısısı 37^{o}C' ye ayarlanmış su banyosunda süratle çözdürülür. Çözdürülen hücre çözeltisi taze besiyeriyle inkübe edilir. Santrifüj kısmıyla dondurma basamağında kullanılan materyaller uzaklaştırılır.

Pellet taze besiyerinde süspanse yapılarak, tekraren taze besiyeri içine alan petrilere boşaltılır. 37^{o}C' de % 5 CO_2' li inkübatörde inkübasyona kaldırılır.

Dondurulmaya maruz kalmış hücrelerin devitrifikasyon ve rekristalizasyon harabiyetlerini en aza indirmek adına süratle çözdürülmesi elzemdir. Donma esnasında biçimlenen ufak buz partikülleri, çözdürme sırasında erimeyle yüz yüze gelirler ve erirler. Çözdürme işlemi sırasında, bu hücrelerin süratli rehidrasyonu esnasında ozmotik strese bağlı şekilde yıkımlar olur. Dolayısıyla çözdürme hızı pek mühimdir.

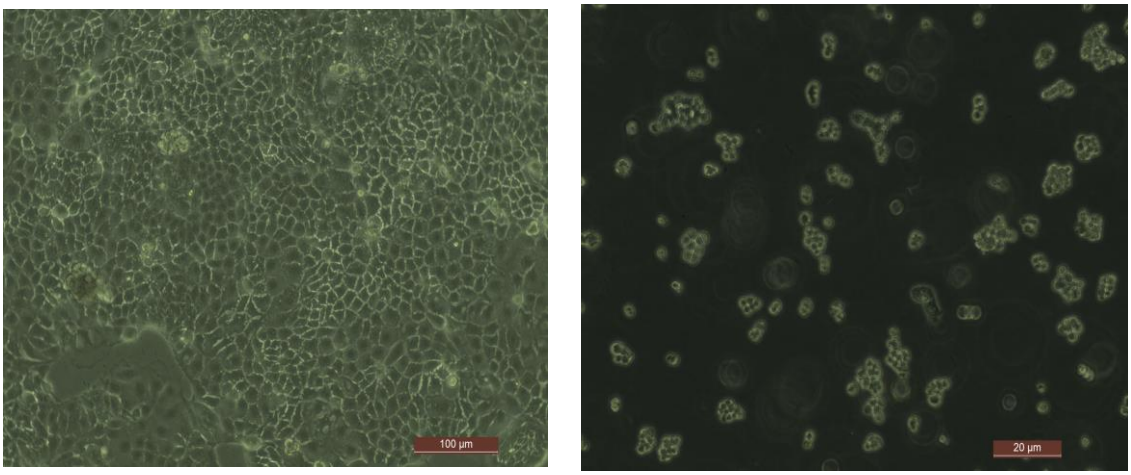
3.5.3.Hücrelerin üretilmesi ve pasajlanması

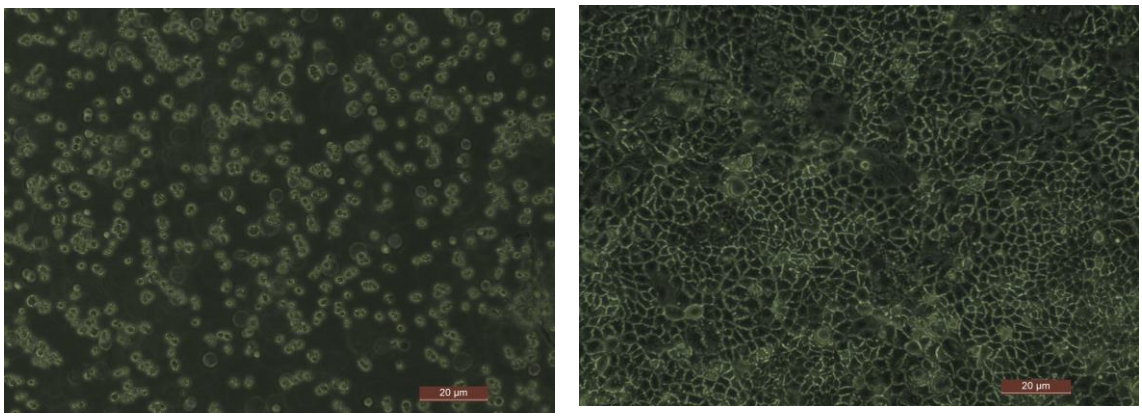
Hücre pasajlama işlemi; flasklarda tek tabaka durumunda mevcut olan hücre dizilerinin tahrip edilmeden yüzeyden sıcaklık ve tripsin sayesinde kaldırılıp sıvı içerisine süspanse ederek farklı ortamlara aktarma ilkesine mesnet eder. Aktarılan ortam % 5 CO_2'li etüvde 37^{o} C' de hücreler tam tabaka olana değin inkübe edilme işlemine devam edilir.

Her hücre tipi, kendine has bir süratle bölünerek çoğalır. Umumen hücre sayısının iki katına çıkması tam bir gün sürmektedir. Bölme işleminin öncesinde tutunan hücrelerin kaldırılması elzemdir. Büyüme çözeltisinin alandan çıkmasının ardından hücreler bir defa daha PBS'yle temizlenir ve ekstrasellüler matriks (EM) proteinlerini parçalamak için tripsin enzimi, integrin – EM etkileşiminde gereken kalsiyum iyonunu yok etmek adına EDTA ve ya Tripsin- EDTA beraber kullanılabilmesi mümkündür. Kaldırılan hücreler sıhhatli bir netice adına sayılmalı ve her bir flask 10^5 hücre/ ml olacak biçiminde birkaç flaska bölünmeye uğramalıdır.



Şekil 3.4. Caco-2 hücre hattı kültürlenmesinde kullanılan cihazlar; invert mikroskop, santrifüj, inkübatör ve su banyosu





Şekil 3.5. Caco-2 kolon kanseri hücrelerinin ekimi yapıldığı andan itibaren aşama aşama gelişimini gösteren invert mikroskop (10X) görüntüleri

3.5.4.Caco-2 hücre hattının sayımı

Hücre sayımı hücre süspansiyonunun yoğunluğunun belirlenmesi için yapılan bir işlemdir. Hücreler pasajlanırken, yeni kültüre veya deneye istenilen miktarda hücre alabilmek amacıyla Thoma lamında sayım işlemi uygulanmıştır. Sayım işlemleri için hücre süspansiyonundan 100 µl alınıp üzerine 900 µl trifan mavisi eklenip Thoma lamı ile üzerine yerleştirilmiş olan lamelin arasındaki oluğa pipet ile kenardan sızdırılarak süspansiyonun yayılması sağlanmıştır ve mililitredeki hücre sayısını belirlemek için ise aşağıdaki formül kullanılmıştır:

Hücre sayısı / mL= Hücre sayısı (tüm lam üzerinde sayılan)

3.5.5. Caco-2 hücre hattının sitotoksisite (XTT) Testi

XTT, hücrelere aktif olarak absorbe olan ve mitokondriyona bağlı bir reaksiyon ile renkli, suda çözünen formazana indirgenen bir maddedir. Hücrelerin XTT indirgeme özelliği hücre canlılığının bir ölçütü olarak dikkate alınır ve XTT analizi sonucunda elde edilen boya yoğunluğu canlı hücre sayısı ile pozitif korelasyon gösterir.

Yüzeylerine Caco-2 hücresi ekilen Nitril (-CN), Amin ($-NH_2$), Karboksilik asit (-COOH) ve Alkil Bromür (-Br)) taşıyan *p-tert*-bütilkaliks[4]aren nanofiber numuneler, 72 saat inkübasyon sonrasında yeni bir 24 kuyucuklu plakaya aktarılacak ve kuyucuklara 500 mikrolitre DMEM ve 250 mikrolitre XTT olacak şekilde eklenecektir. Daha sonra hücreler XTT solüsyonu içerisinde 5 saatlik inkübasyona (%95 nem, %5 CO_2 içeren 37°C'daki doku kültürü etüvü) bırakılacaktır. Süre sonunda, plaklarda

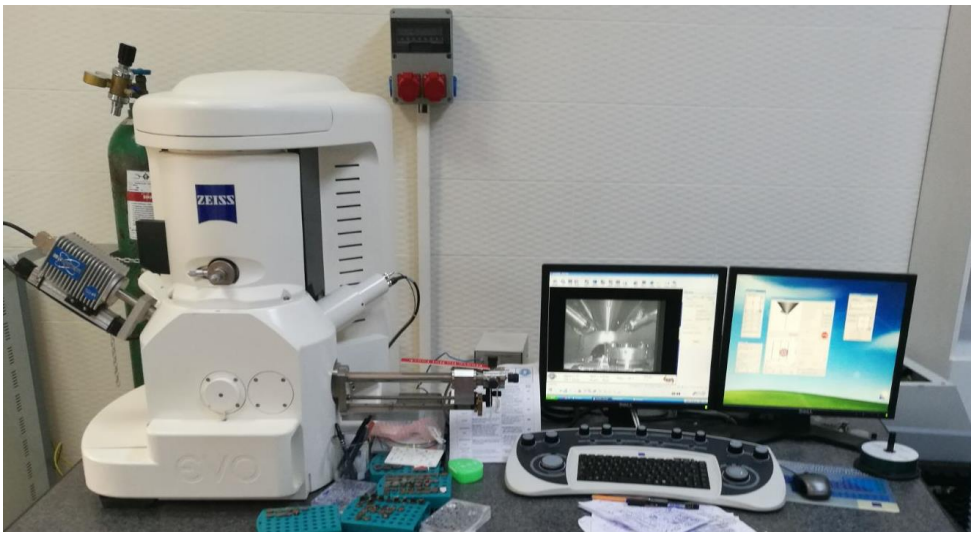
çözünmüş olan formazan kristallerini içeren solüsyondan 150'şer mikrolitre alıp 96 kuyucuklu plaklara aktarılacak ve Epoch Biotek marka ELISA okuyucuda 460 ve 650 nm olmak üzere iki dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülerek canlı hücre sayısı incelenmiştir



Şekil 3.6. Elisa cihazı

3.5.6.Taramalı elektron mikroskobu için numune hazırlama

24 well plaka içinde yüzeylerine Caco-2 hücresi ekilen diester ,Nitril (-CN), Amin ($-NH_2$), Karboksilik asit (-COOH) ve Alkil Bromür (-Br) taşıyan *p-tert*-bütilkaliks[4]aren nanofiber numuneler, etüvde 72 saat inkübasyon sonrasında yeni 24 kuyucuklu plaklara aktarılıp ve 3 kez 0,1 M pH: 7,4 sodyum karbonat tamponuyla yıkanacaktır. Daha sonra yine 0,1 M'lik sodyum kakodilat tamponunda hazırlanmış olan %2,5'luk glutaraldehit solüsyonunda 30 dakika süre ile oda sıcaklığında karanlık bir ortamda bekletilmiştir. Süre sonunda kuyucuklar 2 kez 0,1 M sodium kakodilat tamponunda yıkanmıştır. Tampon uzaklaştırıldıktan sonra 2 kez steril distile su ile yıkanılıp ve son steril distile su çekilerek -80 °C'ye 1 gece bekletilmek üzere derin dondurucuya konumıştır. Ertesi gün -110 °C' ye kadar soğutan liyofilizatörde 1 gece boyunca dondurulup kurutulacaktır. Kurutulan numuneler üzerindeki hücreler SEM analizi öncesi numunenin 5 nm AuPd ile kaplanması sağlanacaktır. Daha sonra SEM'de (Evo LS10, Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) incelenecek ve yüzeyde tutunup çoğalan hücreler, farklı görüntülendi.



Şekil 3.7. taramalı elektron mikroskobu(sem)

3.5.7.Caco-2 Hücrelerin Dondurulması

- Öncelikle flastaki RPMI sölüsyonu dökülür.
- Hücrelerin flaksın yapışkan yüzeyinden kalkmasını sağlamak için 1ml tripsin EDTA flaskın tüm yapışkan yüzeyine pastör pipeti ile damla damlat eklenir ve pipetle geri çekilerek atılır.
- 1ml Tripsin EDTA tekrar aynı şekilde eklenerek flaksın yüzeyi yıkanır (Bu Tripsin EDTA flaksta bırakılır)
  - Enzimin aktifleşmesi için 5-6 dk %5 lik CO_2 li etüvde 37 ^{O}C DE inkübasyonda bekletilir.
  - Üzerine 2 ml RPMI solüsyonu ilave edilir . hafifçe karıştırılır ve falkon tüpüne alınır.
  - 800 rpm de 5 dk santrifüj edilir supennatantı atılır ve pellete hafif vuruşlar uygulanır.
  - Üzerine hücre dondurma solüsyonundan 1ml ilave edilir pipetaj
  - Dondurma için özel olan crysonviallerin içerisine köpükler alınmadan konulur .
  - Vialin kapağı açılırken dokunulmamaya özen gösterilmelidir
  - Önce -20 ^{O}C de bir gün bekletilir daha sonrada -80 ^{o}C de bekletilir
  - Sıvı azotta saklanılır”

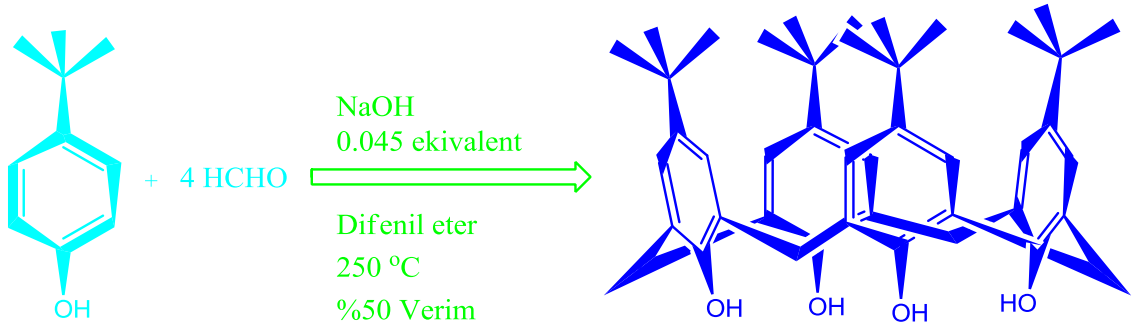


Şekil 3.8. (a) -80 ^{o}C dondurucu ve (b) -196 ^{o}C azot tankı

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1.5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren

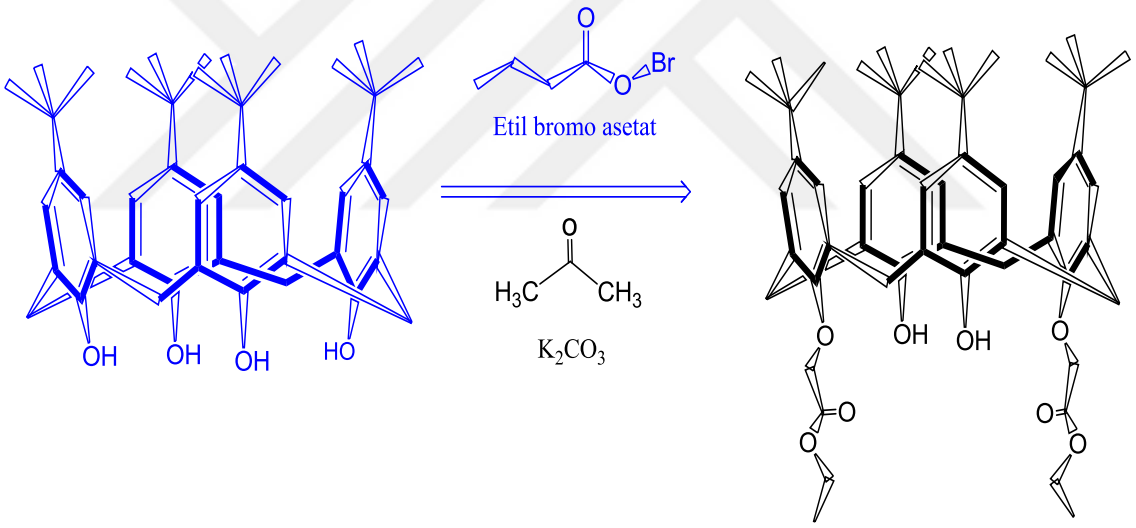
1 L'lik iki boyunlu tek balona, 100 g (0.665 mol) *p-ter*-bütilfenol, 62 ml (0.83 mol) %37'lik formaldehit ve 1.2 g (0.03 mol) NaOH konuldu ve tepkime karışımı mantolu ısıtıcıda ısı değeri 110-120^{o}C'de stabil halde tutularak ksilol başlığı takılı bir geri soğutma sisteminde azot gazı geçirilerek 90 – 120 dakika civarında muamale edildi. Bu sırada tepkime karışımı viskoz bir durumdan önce turuncu renge ilerleyen zamanda katı sarı bir cisme dönüşürken köpürmeler meydana geldi, köpüklerin sönmesi ile oluşan süngerimsi yapının aynı sıcaklıkta kuruması sağlanırken hafifce kızarması da sağlandı. Bu aşamadan sonra ortama 400-500 mL difenileter ilave edilerek katı partiküllerin oda sıcaklığında süspanse olması sağlandı. Oluşan viskoz reaksiyon karışımı ilk 2-3 saat 160 ^{o}C'de ksilol başlığı ve geri soğutucu altında içerisinden N_2(g) geçirilerek lineer oligomerlerin kondensasyon reaksiyonu sonucu kapanması ile oluşan H_2O molekülleri ksilol başlığında toplandı. Bu aşamanın sonunda reaksiyon rengi koyu kırmızı (bordo) renge döndüğünde ksilol başlığı çıkarılarak geri soğutucu altında reaksiyon 2-4 saat reflaks edildi. Reaksiyon süresi sonunda reaksiyon karışımının oda sıcaklığına gelmesi beklendikten sonra ortama etilasetat ilave edilerek *p-ter*-bütilkaliks[4]aren kristallerinin çökmesi sağlandı. Reaksiyon karışımı birkaç saat etilasetat ile etkileştirildikten sonra nuçe hunisi ve nuçe erleninde süzme yapıldı ve süzüntü sırasıyla 100 mL EtOAc, 150 mL asetik asit ve nötral pH'a kadar H_2O ile yıkandıktan sonra 110^{o}C'de etüvde kurutuldu. Kurutulan beyaz katı partiküller toluen ile sıcak kristallendirilme yapılarak, kurutulan 64.35 g (% 60) ham olan ürün toluenden tekrar kristallendirilerek 60.1 g parlak, beyaz kristal halde, erime noktası 343 ^{o}C (Lit., 344-346 ^{o}C) olan başlangıç maddesi *p-ter*-bütilkaliks[4]aren yapıldı (Gutsche ve Iqbal, 1990)



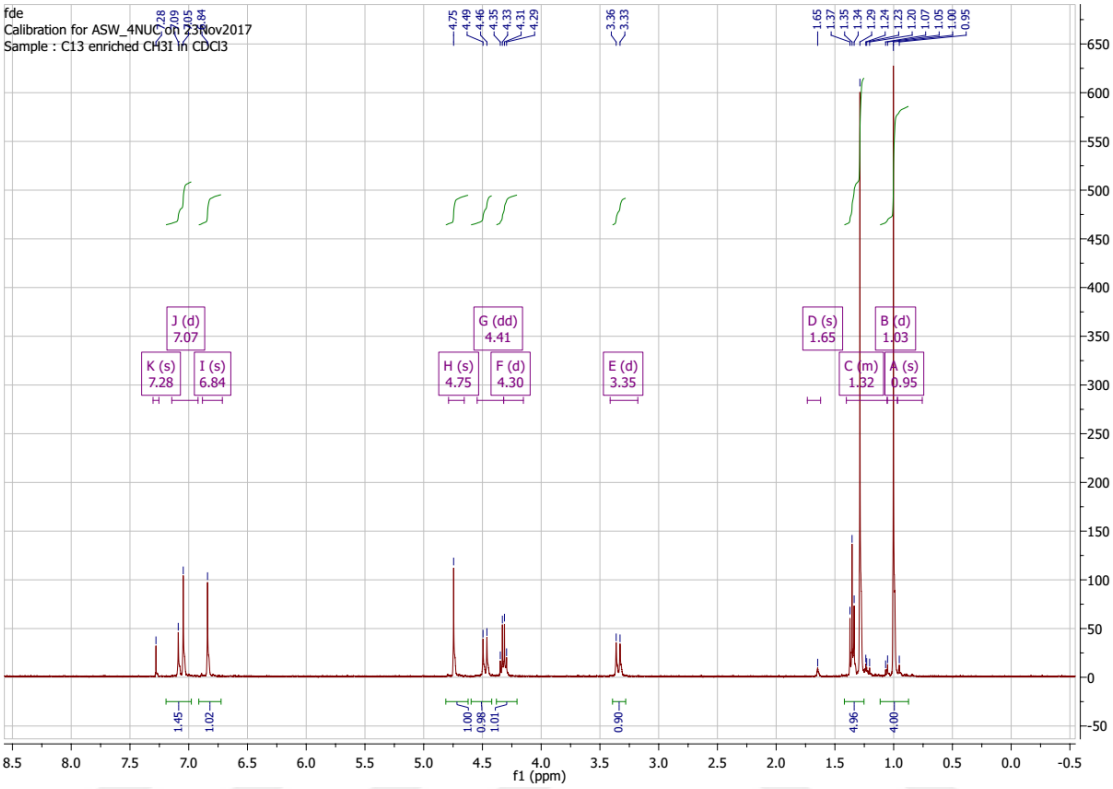
Şekil 4.1..*p-tert*-bütilkaliks[4]aren sentez gösterimi

4.2.5,11,17,23-Tetra-ter-bütil-25,27-dietoksikarbonilmetoksi-26,28-dihidroksi kaliks[4]aren

250 mL lik iki boyunlu reaksiyon balonuna 2 g (3.0) mmol *p-ter*bütilkaliks[4]aren, 0.82 g (5.9 mmol) K_2CO_3 ve 6.0 mmol Etilbromasetat 100 mL aseton içerisinde tam bir gün refluks edilir. Oda sıcaklığına soğutulan karışım süzülerek inorganik tuzlar uzaklaştırılır. Süzüntünün çözücüsü evaporatör uzaklaştırıldıktan sonra reaksiyon balonunda kalan katı partikül kurutulur ve sonrasında Etanol ile rafkals edilerek kristallenmeye bırakılır (Collins ve ark., 1991). Verim: 2.11 g, % 75, E.n: 203-205 ^{o}C.. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 0.97 (s, 18H, Bu_t),1.24 (s, 18H, Bu_t), 3.35 (d, 4H, *J*= 12.6 Hz, $ArCH_2Ar$), 3.85(s, 6H, OCH_3), 4.45 (d, 4H, *J*= 12.6, $ArCH_2Ar$), 4.78 (s, 4H, OCH_2CO), 6.85 (s, 4H, ArH), 7.05 (s, 4H, ArH), 7.10 (s, 2H, OH). Molekül Ağırlık: 851.16 g/mol, Anal. Hesapl.: $C_{54}H_{74}O_8$; C, 76.20; H, 8.76. Bulunan; C, 77.80; H, 8.92.



Şekil 4.2. *p-ter*-Bütilkaliks[4]aren Diester Sentez Görseli

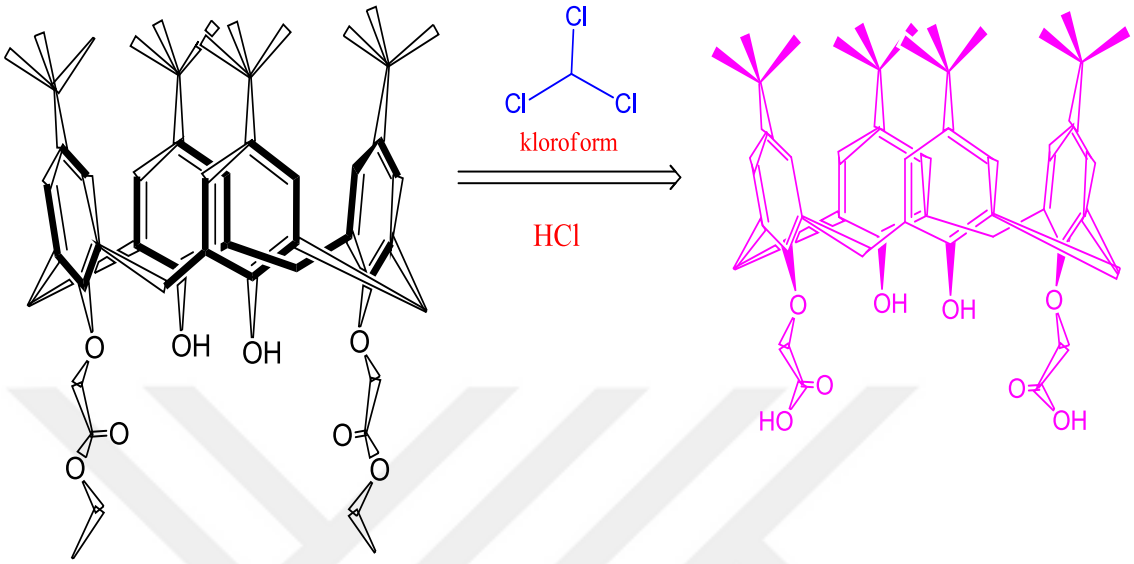


Şekil 4.3. Bileşik 7'nin $_1$H-NMR spektrum görünümü

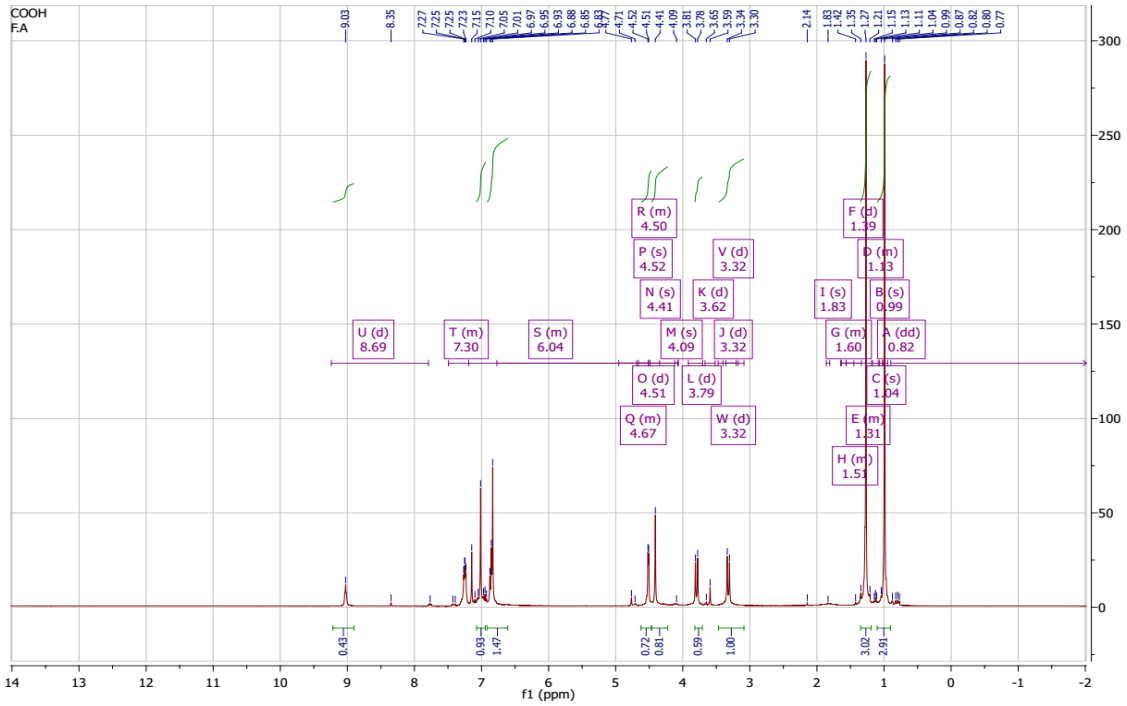
4.3.5,11,17,23-Tetra-ter-bütil-25,27-dihidroksikarboksilik asit- 26,28-dihidroksi kaliks[4]aren

2.13 g (2.5 mmol) 2 nolu diester bileşiği kloroform içerisinde çözülür. Üzerine 10ml HCL damla damla ilave edilir. Reaksiyon 24 saat oda sıcaklığında karıştırıcıda karıştırılır. Reaksiyon sonunda çözücü düşük basınç altında uzaklaştırılır. Tepkimenin neticesinde çözücü evaporatör ile uzağa atılde, kalan katı partikül 250 mL $CHCl_3$ ile çözülür ve ayırma hunisinde nötral pH ya kadar saf H_2O ile yıkanır, yıkama sonunda organik faz kuru $MgSO_4$ ile kurutulur ve sonrasında süzülür. Süzüntü evaporatör ile konsantre edilir ve damla damla CH_3OH damlatılarak kristallenmeye bırakılır. Kristaller süzülerek alınır, etüvde 80 ^oC de kurutulur. E.n.: 196-199 ^oC, 1H NMR (400 MHz $CDCl_3$): δ1.11 (s, 18H, Bu_t), 1.34 (s, 18H Bu_t), 2.42 (t, 4H, CCH_2NH_2), 2.59 (brs, 4H, NH_2), 2.95 (t, 4H, $ArOCH_2CH_2NH_2$), 4.24 (d, *J* = 12.6, 4H, $ArCH_2Ar$), 4.40 (d, *J*=13Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 5.40 (s, 2H, ArOH), 6.80 (s, 4H, ArH),

7.21 (s, 4H, ArH),9.00 (s,2H,COOH).M_A: 735 g/mol, $C_{48}H_{66}N_2O_4$, Elemental Analiz: C, 78.43; H, 9.05; N, 3.81; O, 8.71.



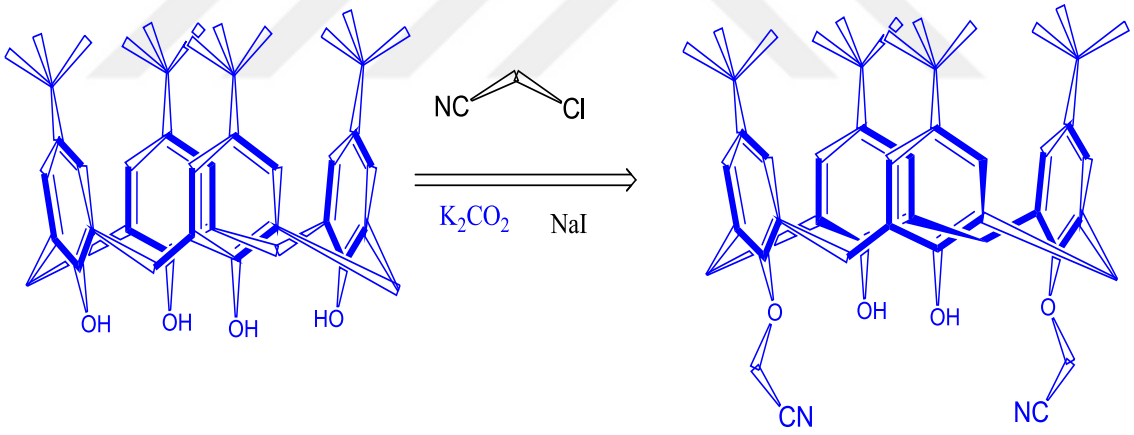
Şekil 4.4.5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-dihidroksikarbonilmetoksi26,28-dihidroksi kaliks[4]aren



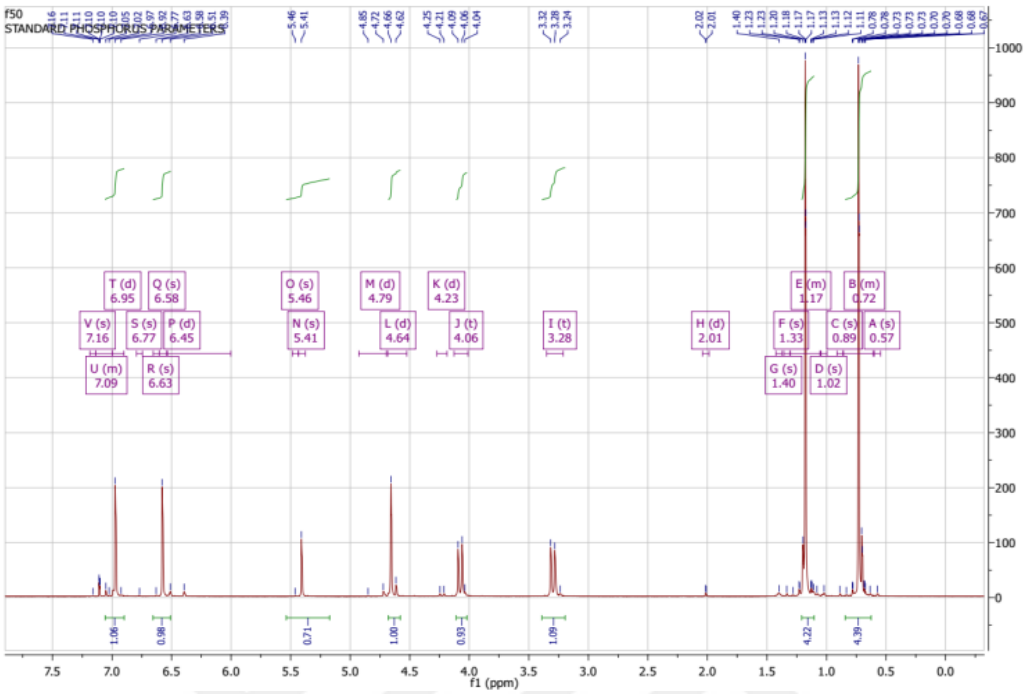
Şekil 4.4. Bileşik 7'nin 1H-NMR spektrum görünümü

4.4.5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-disiyanometoksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren

3,25 g (5mmol) *p-ter*-bütil-kaliks [4]aren, 2,76 g (20 mmol) potasyum karbonat ile 3,00 gram (20 mmol) sodyum iyodür aseton içerisinde çözündükten sonra üzerine 4,2 klorasetonitril ilave edilir. Reaksiyon 48 saat oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda karıştırılır. Reaksiyon sonunda çözücü evaporatörde uzaklaştırılır, sona kalan katı partikül 250 ml diklormetan içerisinde çözündükten sonra nötral PH ya kadar saf suyla yıkandıktan sonra organik faz kuru $MgSO_4$ ile kurutulur ve süzülür. Süzüntü evaporatörde konsantre edilir ve damla damla metanol ilave edilerek kristallenmeye bırakılır. Verim: 2.11 g, % 75, E.n: 203-205 ^oC. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 0.97 (s,18H,Bu^t), 1.24 (s,18H,Bu^t),3.42 (d,*J*=13.2,4H,$ArCH_2Ar$), 4,24 (d,J=12.6,4H ,$ArCH_2Ar$), 4.84 (s,4H,OCH_2CN), 5.60 (s,2H, ArOH) ,6.83 (s,4H,ArH) ,7.22 (s,4H,ArH). M_A: 727 g/mol , $C_{48}H_{58}N_2O_4$, C, 79.30; H, 8.04; N, 3.85; O, 8.80.



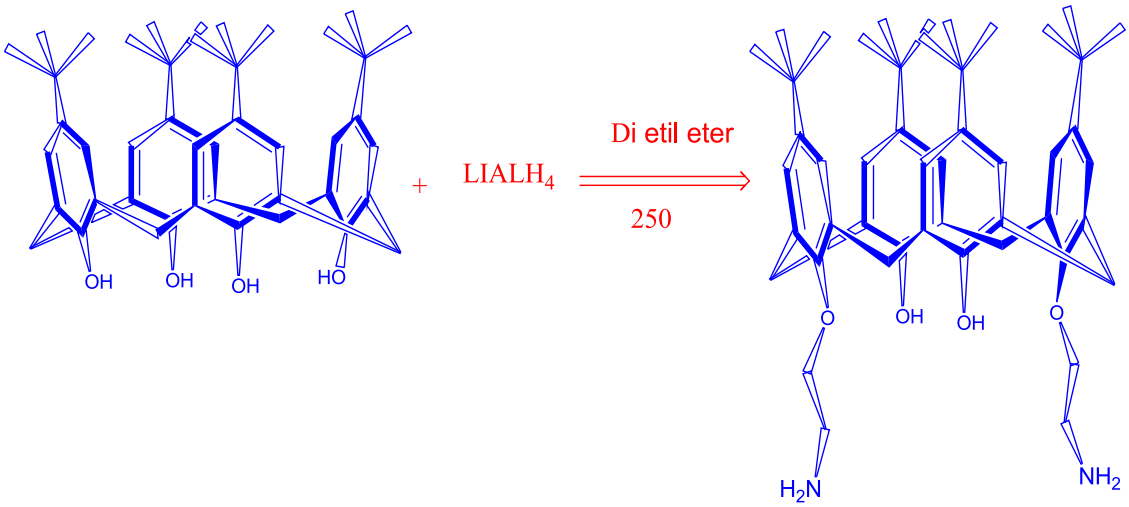
Şekil 4.5.5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-disiyanometoksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren



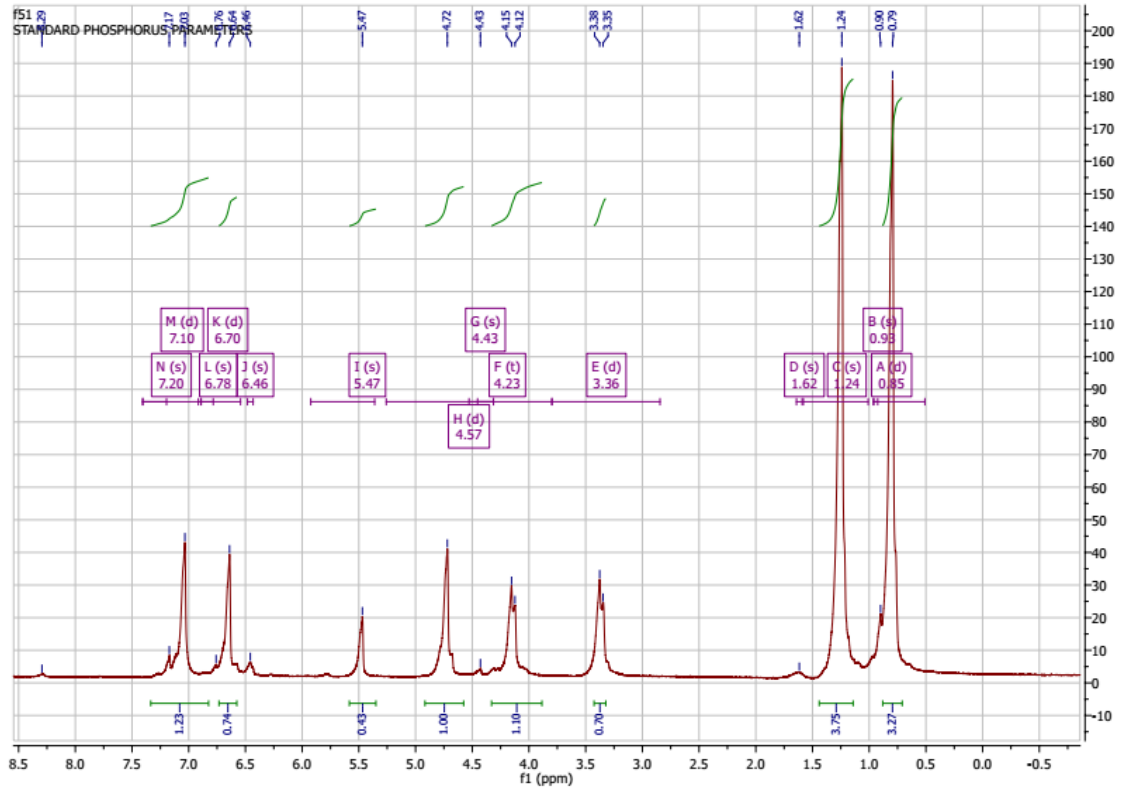
Şekil 4.6. Bileşik 7'nin $_1$H-NMR spektrum görünümü

4.5.5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-diaminoetoksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren

1g (1.07mmol) bileşik 4, 250 dietileter içerisinde çözülür. Üzerine 0,43 g (11,3 mmol) $LiAlH_4$ yavaş yavaş ilave edilir. Reaksiyon 72 saat oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda karıştırılır. Reaksiyon sonunda çözücü düşük basınç altında uzaklaştırılır. Reaksiyon sonunda çözücü evaporatörde uzaklaştırılır , geriye kalan katı partikül 250 mL $CHCl_3$ ile çözülür ve ayırma hunisinde nötral pH ya kadar saf H_2O ile yıkanır, yıkama sonunda organik faz kuru $MgSO_4$ ile kurutulur ve sonrasında süzülür. Süzüntü evaporatör ile konsantre edilir ve damla damla CH_3OH damlatılarak kristallenmeye bırakılır. Kristaller süzülerek alınır, etüvde 80 ^oC de kurutulur. E.n.: 196-199 ^oC, 1H NMR (400 MHz $CDCl_3$): δ1.11 (s, 18H , Bu^t), 1.34 (s, 18H , Bu^t), 2.42 (t, 4H, CCH_2NH_2), 2.59 (brs, 4H, NH_2), 2.95 (t, 4H, $ArOCH_2CH_2NH_2$), 4.24 (d, *J* = 12.6, 4H, $ArCH_2Ar$), 4.40 (d, *J*=13Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 5.40 (s, 2H, ArOH), 6.80 (s, 4H, ArH), 7.21 (s, 4H, ArH).M_A: 735 g/mol, $C_{48}H_{66}N_2O_4$, Elemental Analiz: C, 78.43; H, 9.05; N, 3.81; O, 8.71.



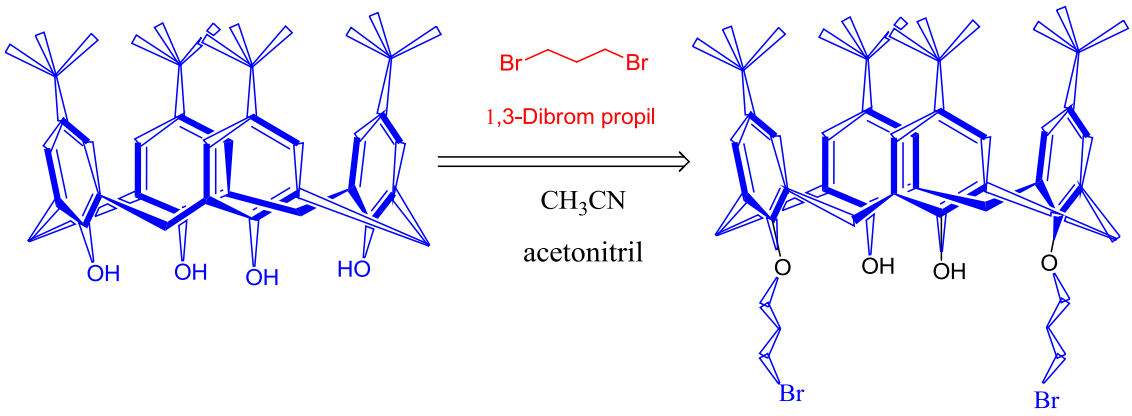
Şekil 4.7.5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-diaminoetoksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren



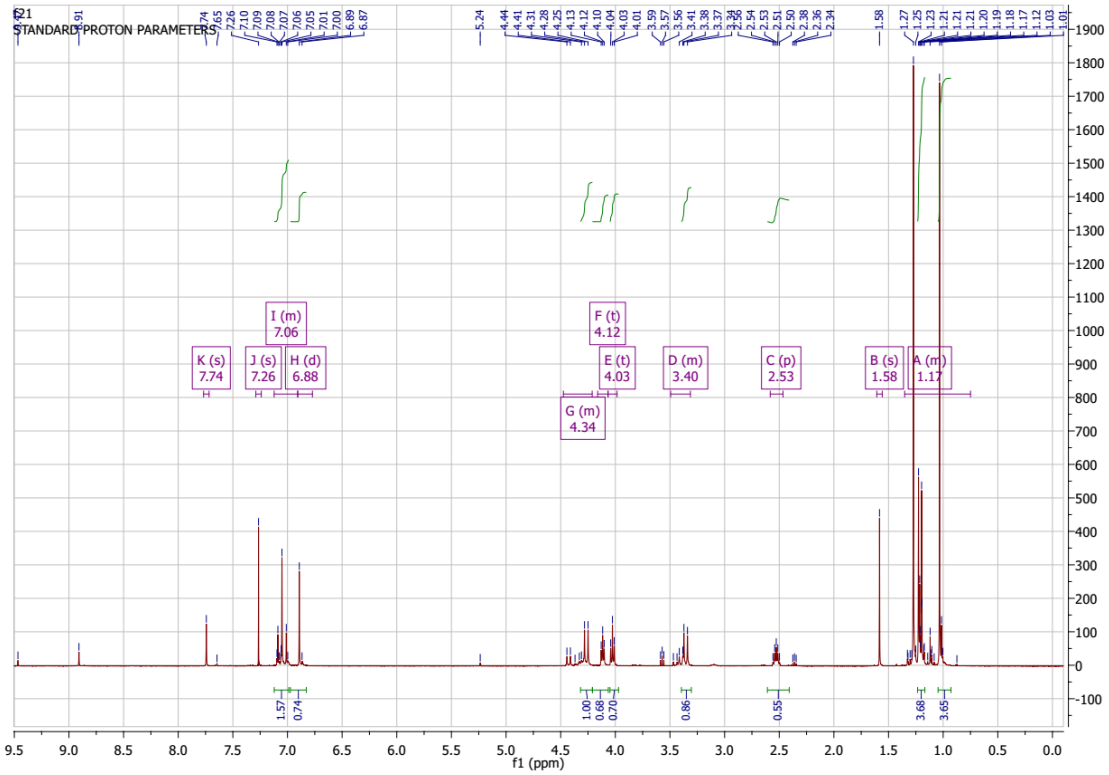
Şekil 4.8. Bileşik 7'nin 1H-NMR spektrum görünümü

4.6.25,27-Bis(3-bromopropoksi)-26,28-dihidroksi-5,11,17,23-tetra*(ter-butil)* kaliks[4]aren

6.64 g (10mmol) kaliks[4]aren,1.38 g (10mmol) potasyum karbonat 250 ml asetonitril içerisinde çözülür. Üzerine 15mmol 1,3-dibrompropan ilave edilerek reaksiyon tam iki gün yani 48 saat oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda karıştırılır. Tepkime İTK izlenerek başlangıç materyallerin ürüne evrimi gözlemlenir. Ayrıca reaksiyon FTİR spektroskopisinde 1687 cm^{-1} deki 1,3-brom propan bandına dönüşümü gözlemlenir. Asetonitril evaporatörde uzaklaştırılır. Sona kalan katı partikül 250 ml CH_2Cl_2 çözülür. Sırasıyla ayrıma hunisinde 3M HCl çözeltisiyle ekstraksiyon yapılır. Organik faz $MgSO_4$ ile kurutulur evaporatör ile konsantre edilir. Üzerine yeterli miktarda metanol ilave edilir ve buzdolabında kristallenmeye bırakılır. Kristaller süzülerek alınır ve etüvde 83 ^oC'de kurutulur. Verim:% 64; E.N.: 277-279 ^oC; 1H NMR (400 MHz CDCl3): δ(ppm) 0.94 (s,18H,C(CH_3)),1,24 (s,18H,C(CH_3)),3.32 (d,4H,J=13.3 Hz, Ar-CH_2-Ar), 3,38(t,4H,CH_2Br), 4.32 (d, 4H, *J*=13.3 *Hz*, Ar-CH_2-Ar), 7.05 (s, 4H, ArH).M_A : 966 g/mol, $C_{55}H_{81}Br_2O_4$, Elemental Analiz: C, 68.38; H, 8.45; Br, 16.54; O, 6.62.



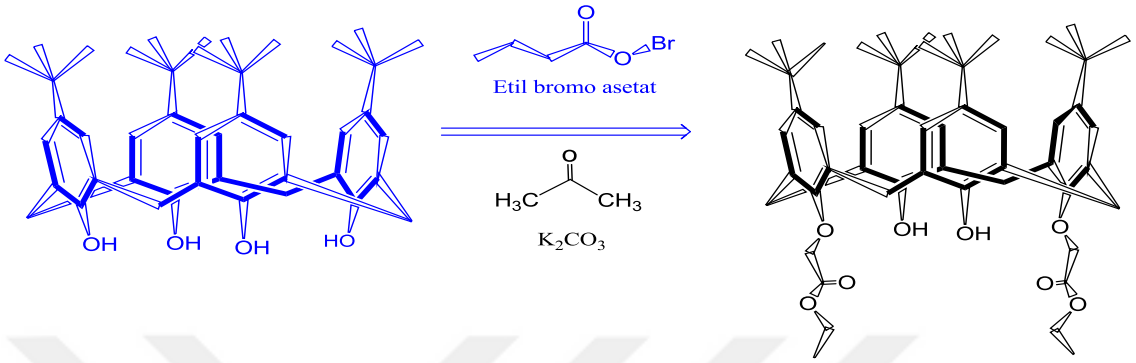
Şekil 4.9.25,27-Bis(3-bromopropoksi)- 26,28-dihidroksi- 5,11,17,23- tetra (ter-butil) kaliks[4]aren

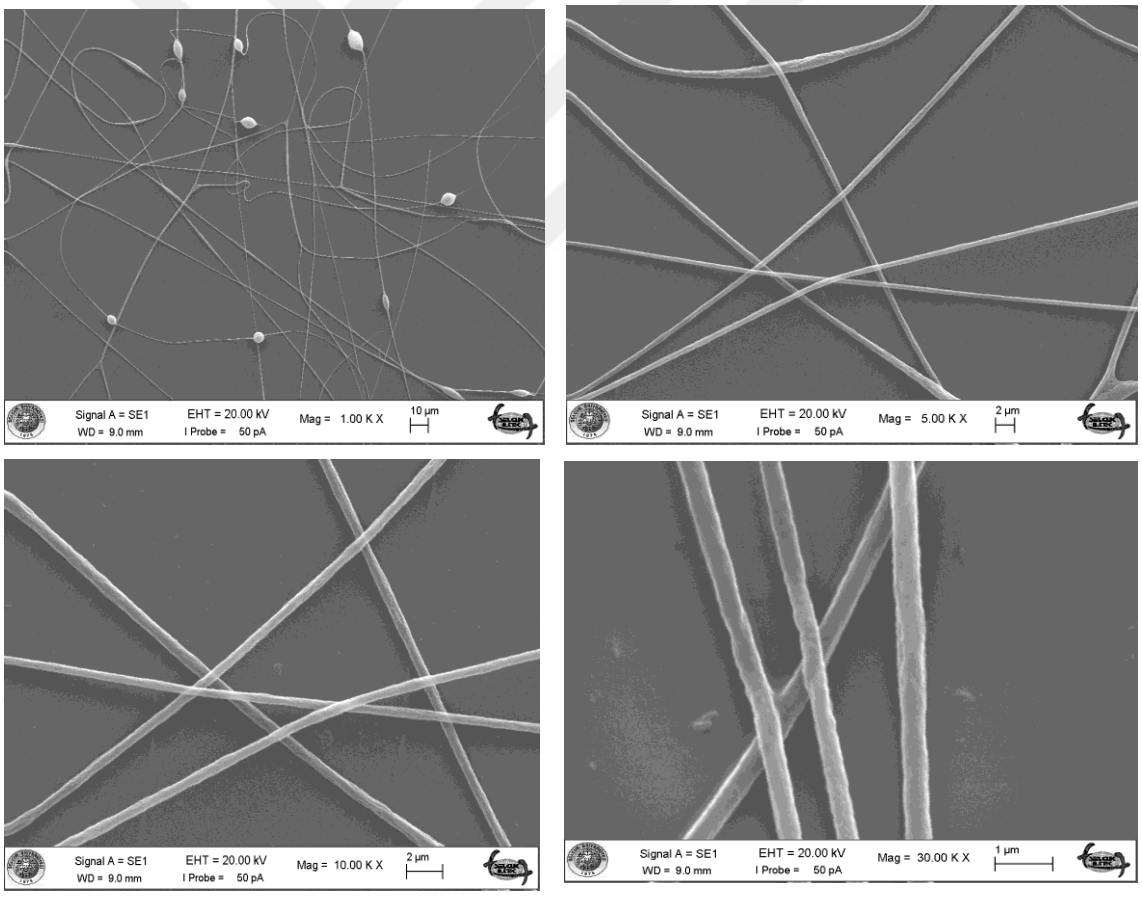


Şekil 4.10. Bileşik 7'nin 1H-NMR spektrum görünümü

4.7.DE,CN, NH_2, COOH ve Br nün SEM analizleri

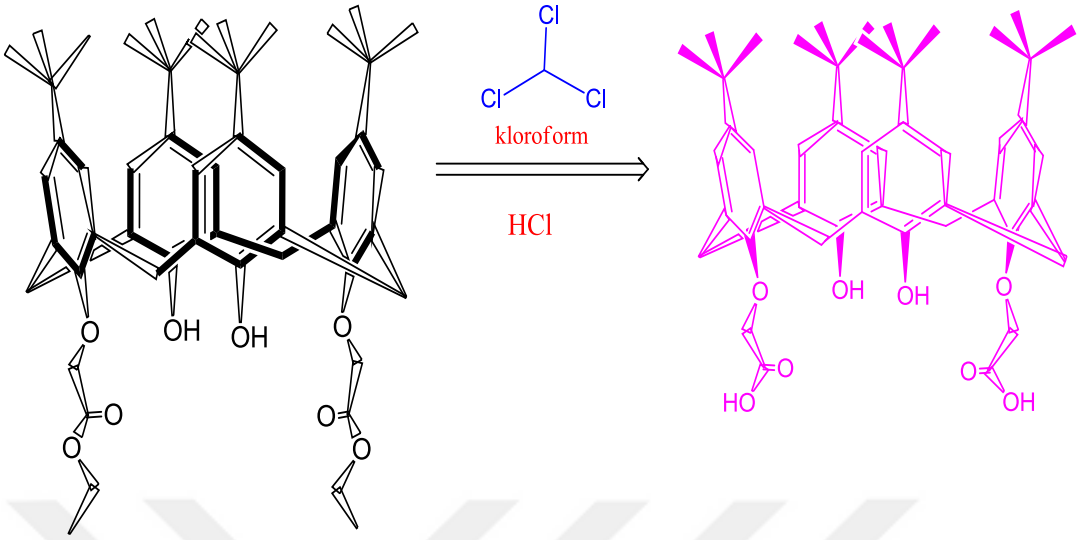
- **5,11,17,23-Tetra-ter-bütil-25,27-dietoksikarbonilmetoksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren**

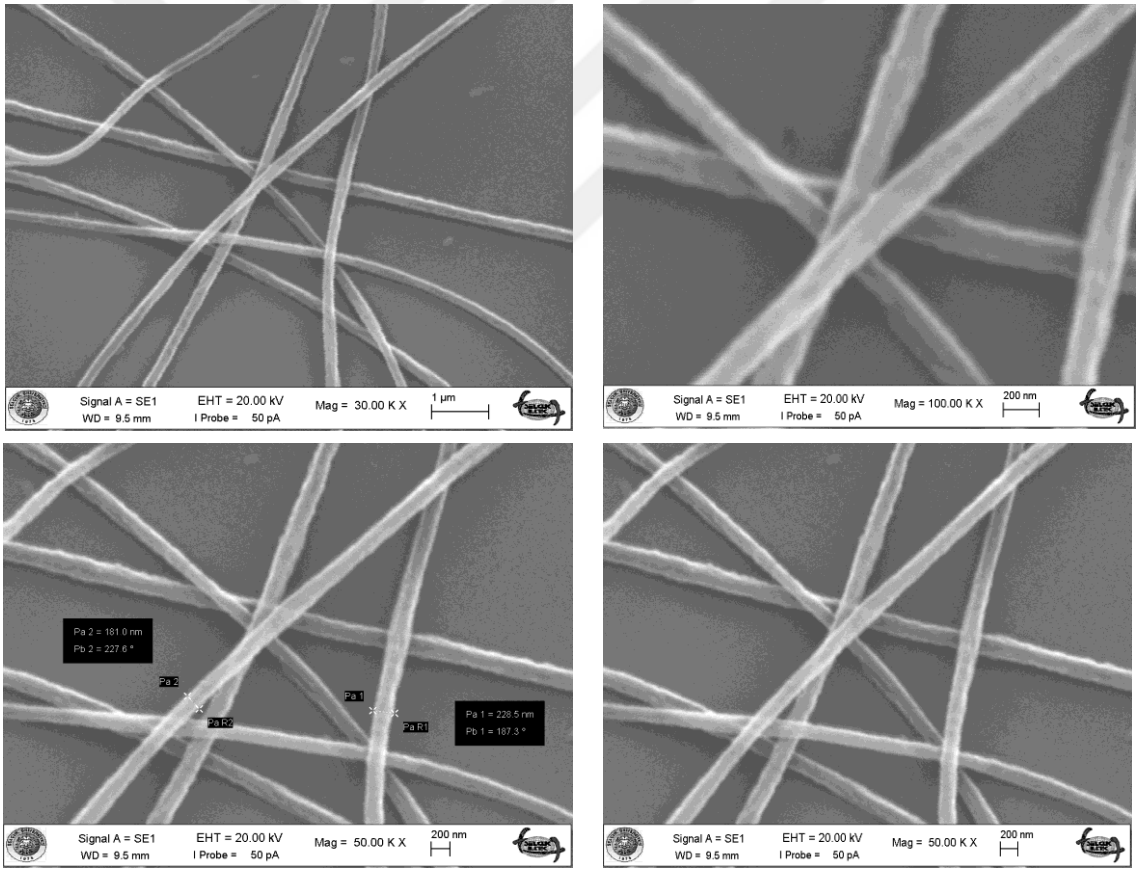




Şekil4.11.5,11,17,23-Tetra-ter-bütil-25,27-dimetoksikarbonilmetoksi-26,28-dihidroksi-kaliks[4]aren sem görüntüleri

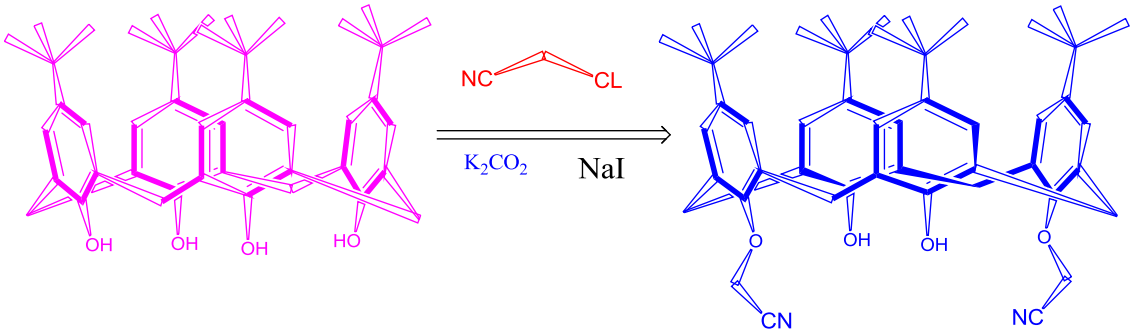
➢ 5,11,17,23-Tetra-ter-bütil-25,27-dihidroksikarboksilik asit- 26,28-dihidroksi kaliks[4]aren

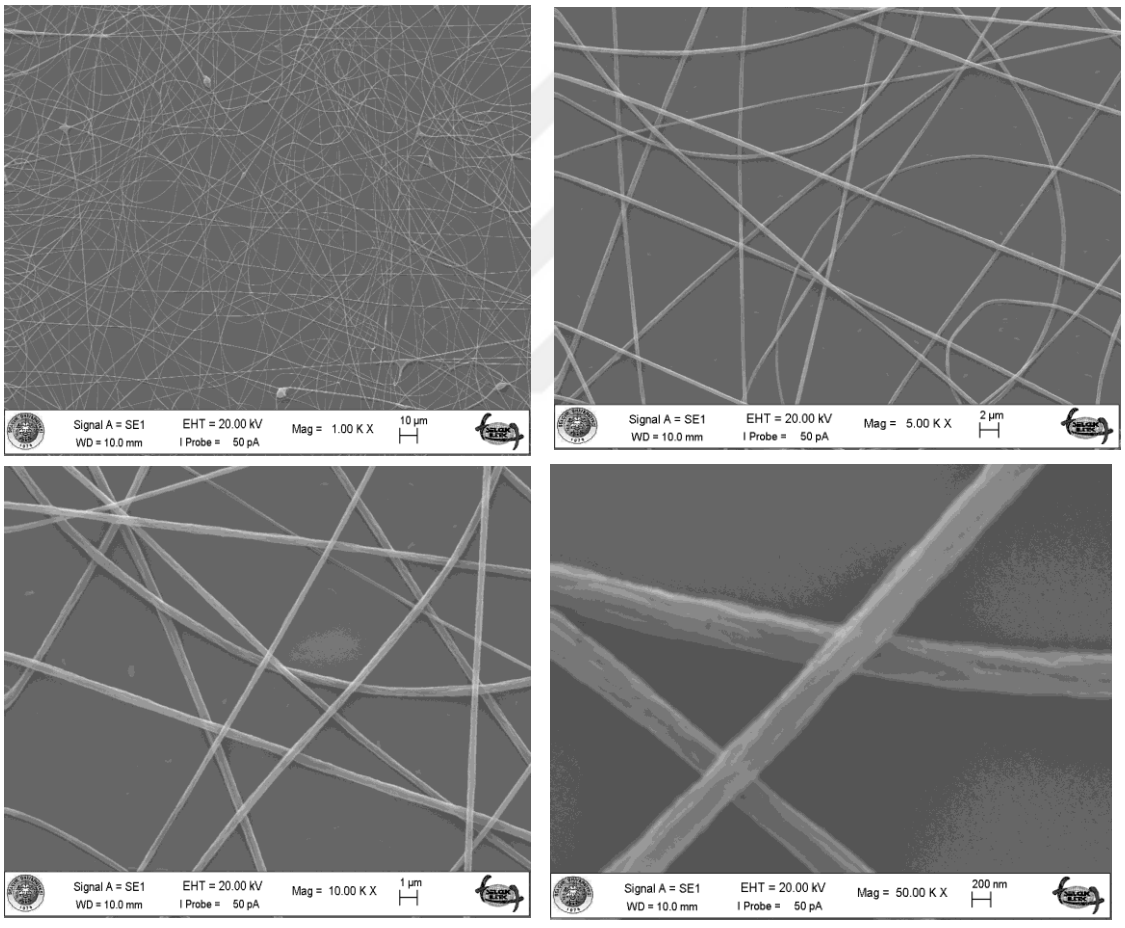




Şekil 4.12.5,11,17,23-Tetra-ter-bütil-25,27-dihidroksikarboksilik asit- 26,28-dihidroksi kaliks[4]aren SEM görüntüleri

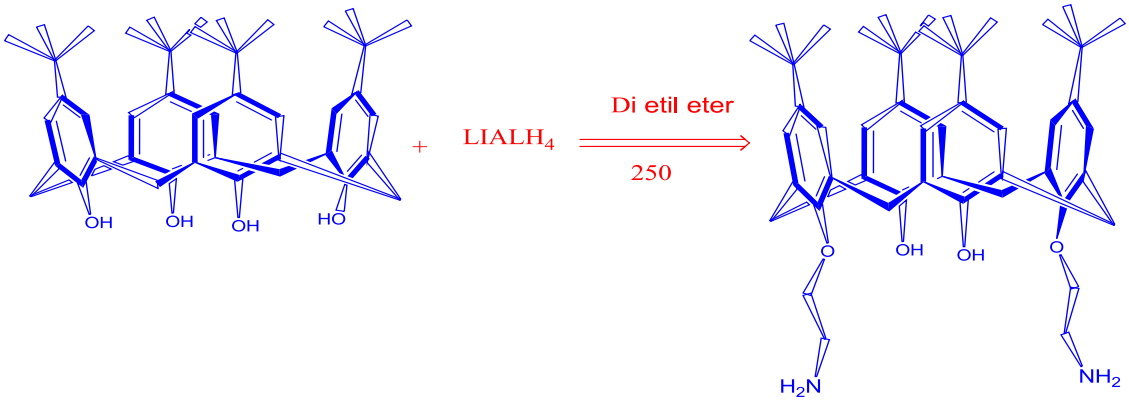
- **5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-disiyanometoksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren**

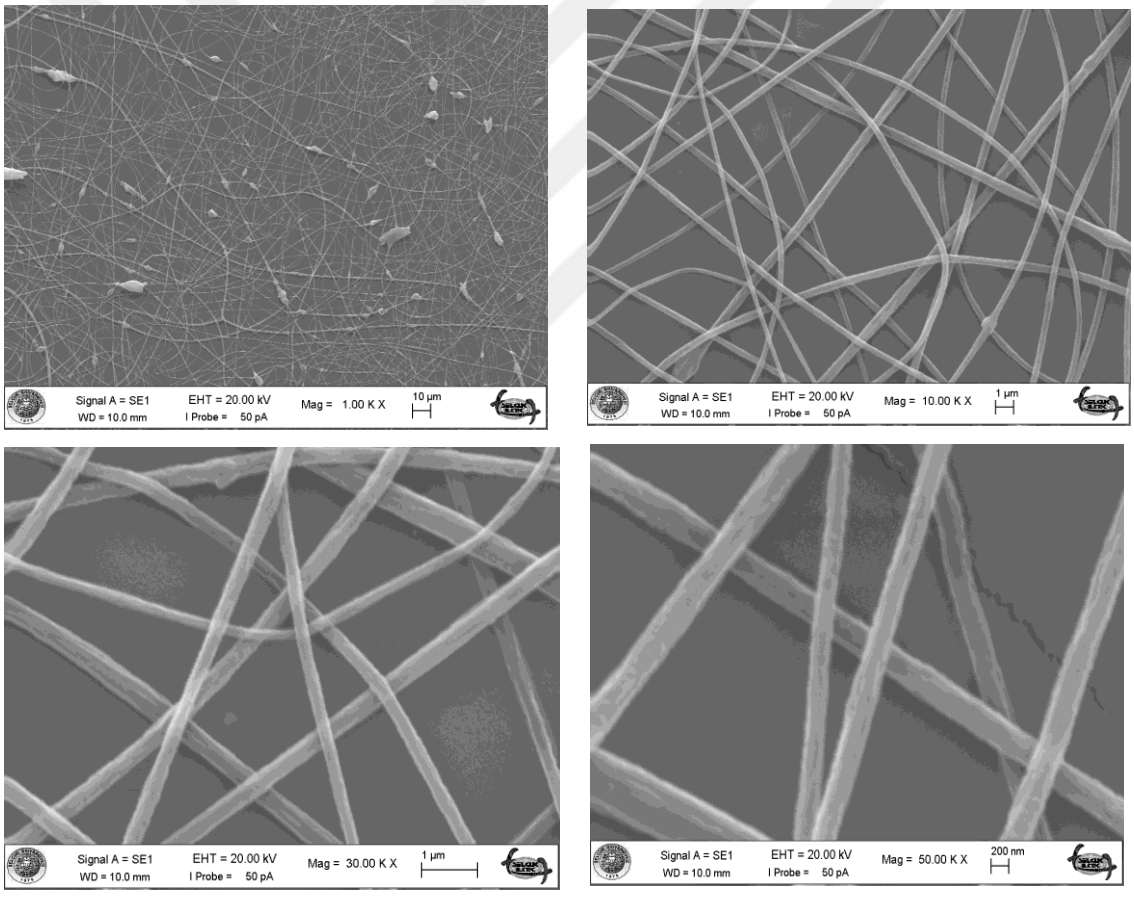




Şekil 4.13.5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-disiyanometoksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren

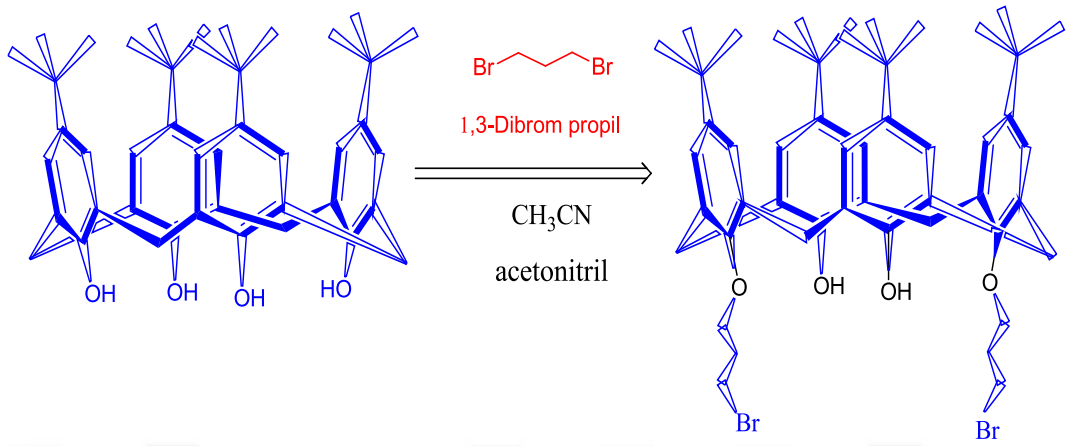
- **5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-diaminoetoksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren**

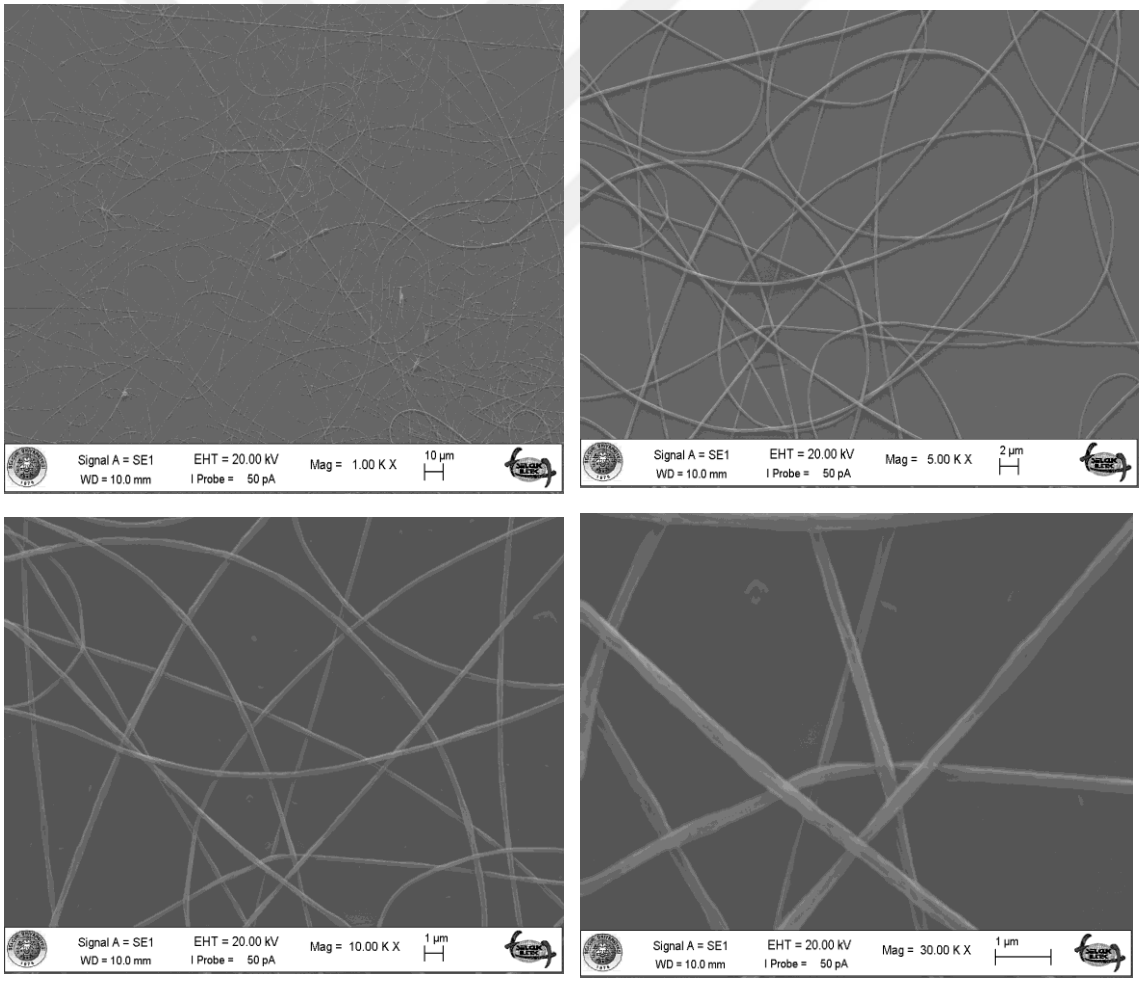




Şekil 4.14.5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-diaminoetoksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren

- 25,27-Bis(3-bromopropoksi)- 26,28-dihidroksi- 5,11,17,23- tetra (ter-butil) kaliks[4]aren

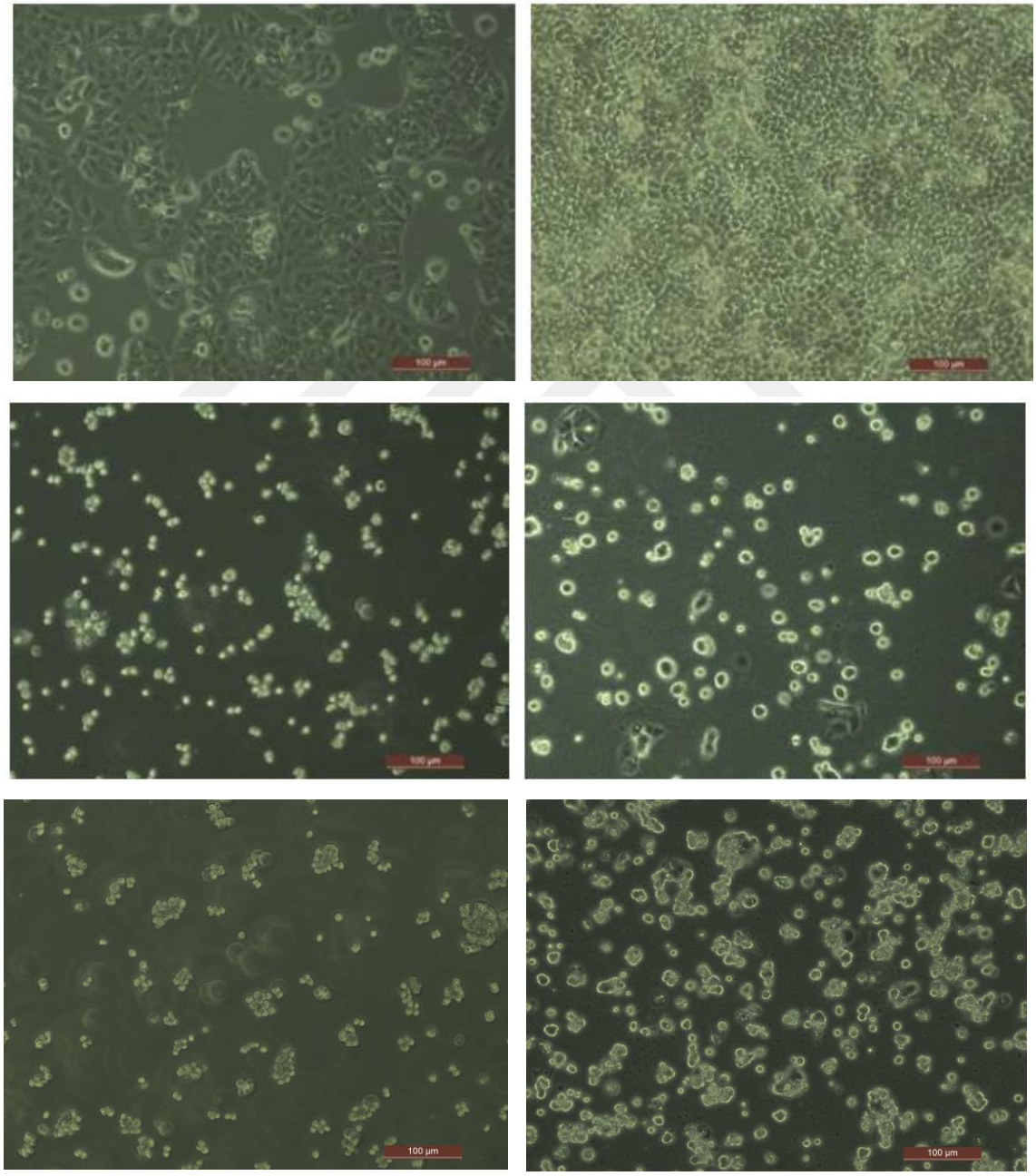




Şekil 4.15. 25,27-Bis(3-bromopropoksi)- 26,28-dihidroksi- 5,11,17,23- tetra (ter-butil) kaliks[4]aren

4.8. Hücrelerin Üretilmesi ve Pasajlanması

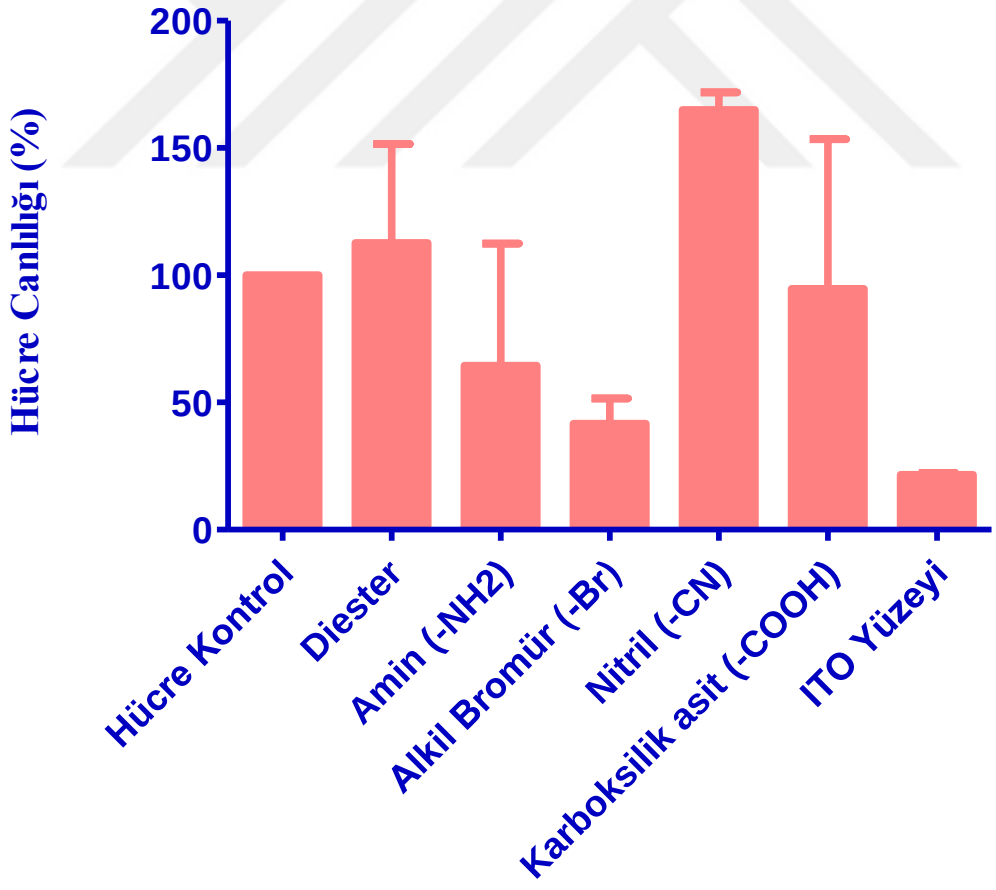
Caco-2 kolon kanseri hücre hattı deneyim süresince % 20 FBS % 0.1 Gentamisin içeren PRMI içinde üretilerek 37 ^{o}C de %5 CO_2 içeren etüvde inkübe edilmiş,pasajlanmiş ve çalışma durumuna göre belirli zamanlarda dondurulmuştur. . Çalışma süresince invert mikroskop ile 10X'de çekilen bazı hücre görüntüleri Şekil 4.16'de verilmiştir.



Şekil 4.16. Caco-2 hücre hattının invert mikroskop altında görüntüleri

4.9. Nanofiber Yüzeylerin Caco-2 Hücre Hattına Proliferasyon Etkisinin İncelenmesi

24 kuyucuklu plakalar içindeki kuyucuklara Nitril (-CN), Amin ($-NH_2$), Karboksilik asit (-COOH) ve Alkil Bromür (-Br) adlı kaliks[4]aren bileşiklerinden elektro döndürme yöntemi ile üretilmiş nanofiber platformları yerleştirildi. Daha sonra bu numuneler en az 2 saat olmak kaydıyla UV'de sterilizasyonları yapıldı. Bu numune yüzeyler üzerine ve boş kuyucuklara kontrol amacıyla 10^4 Caco-2 hücresi ekimi yapılarak 24 saat boyunca inkibatörde bırakılarak kontrol ve nanofiber yüzerler üzerindeki Caco-2 hücre hattının büyüme proliferasyonları incelendi. Bu inceleme için XTT metodu kullanıldı.



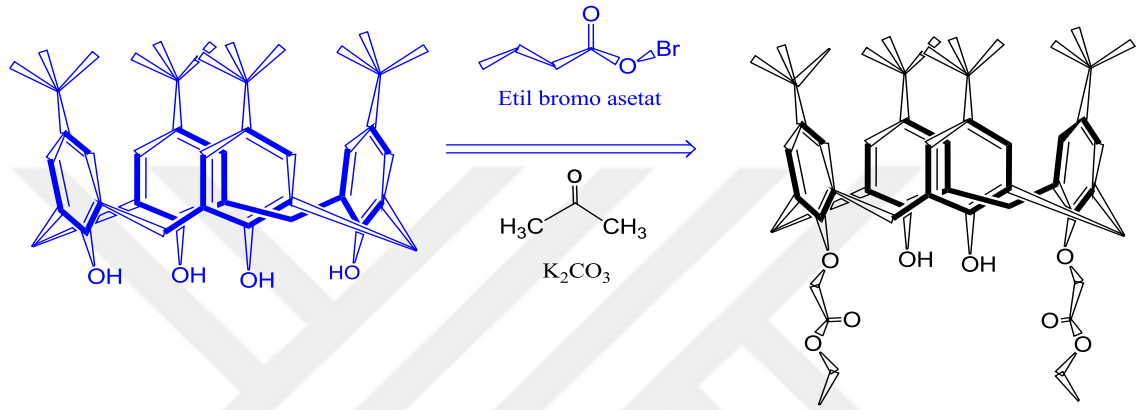
Şekil 4.17. Nanofiber yüzeylerde $15x10^4$ Caco-2 hücresinin 48 saat sonraki XTT hücre canlılığı sonuçlar

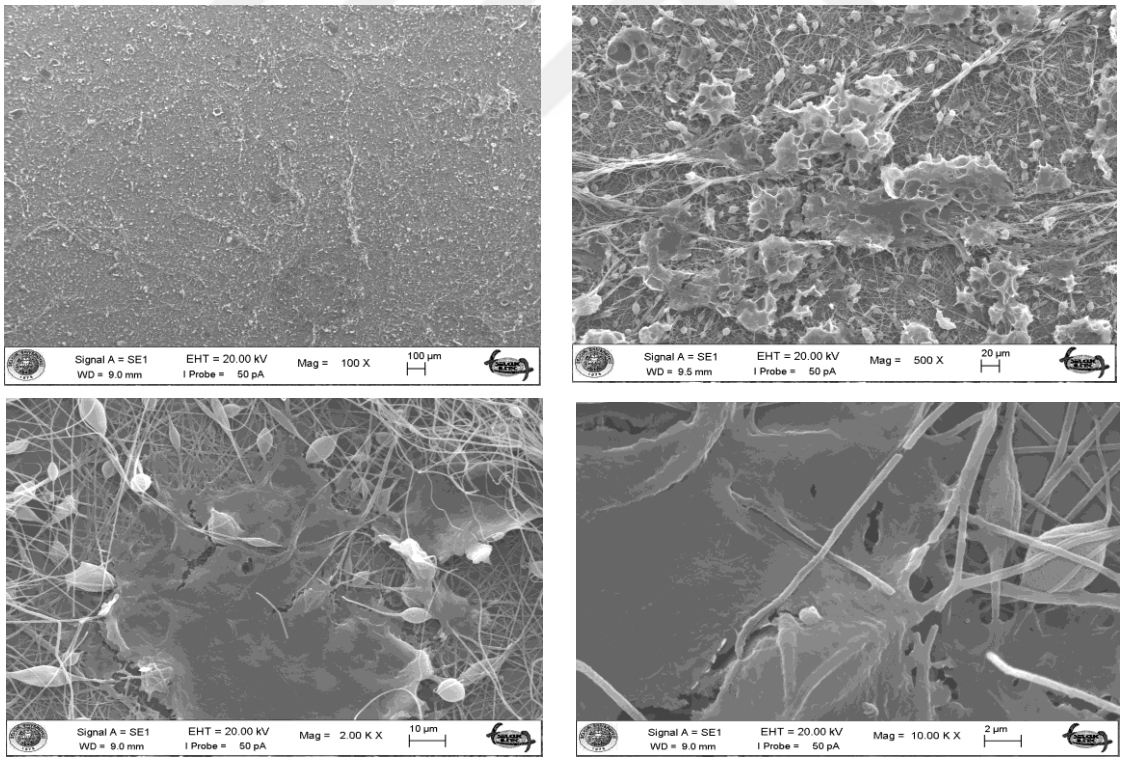
Bu yüzeylerden Caco-2 hücre çoğalmasını en iyi destekleyen Nitril (-CN), nanofiber yüzeyi görüldü. Nanofiber kaliks[4]aren bileşiklerinin şekil değişikliklerine göre hücreleri etkilediği tesbit edilmiştir. Nitril (-CN),'nin biyouyumluluğu ,diester Amin ($-NH_2$), Karboksilik asit (-COOH) ve Alkil Bromür (-Br)ile karşılaştırıldığında, daha yüksek bulunmuştur. Nitril (-CN), hücrenin ECM matrisine benzer bir ortam oluşturmasına izin vermiştir. 24 gözlüklü plakalara Nitril (-CN), nanofiberleri yerleştirilip daha sonra bu numuneler yaklaşık 2 saat boyunca UV'de sterilizasyonları yapıldı. Değişik bir yaklaşımla, bu numuneler üzerine $15x10^4$ Caco-2 hücresi ekimi yapılarak 24,48,72 ve 96 saat boyunca inkibatörde bırakılarak en iyi ortamı sağlayan Nitril (-CN), yüzeyinde Caco-2 hücre hattının çoğalması incelendi. Bu incelemeler için XTT yöntemi ile invert mikroskop kullanıldı.

4.10.Taramalı elektron mikroskobu (SEM)görüntüleri

SEM analizi öncesi DE,CN,NH_2,COOH ve Br numunelerinin 5 nm AuPd ile kaplanması sağlanmıştır. Daha sonra numuneler SEM mikroskobunda incelenmiş ve yüzeyde tutunup çoğalan hücreler, farklı büyütmelerde (100X, 5000X, 1000X, 2000X, 5000X, 10000X) görüntülenmiştir.

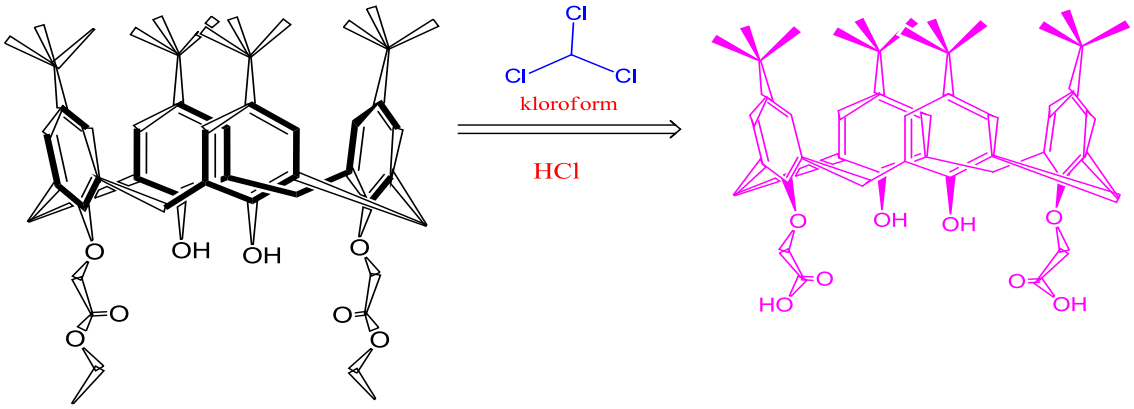
4.10.1. 5,11,17,23-Tetra-ter-bütil-25,27-dietoksikarbonilmetoksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren

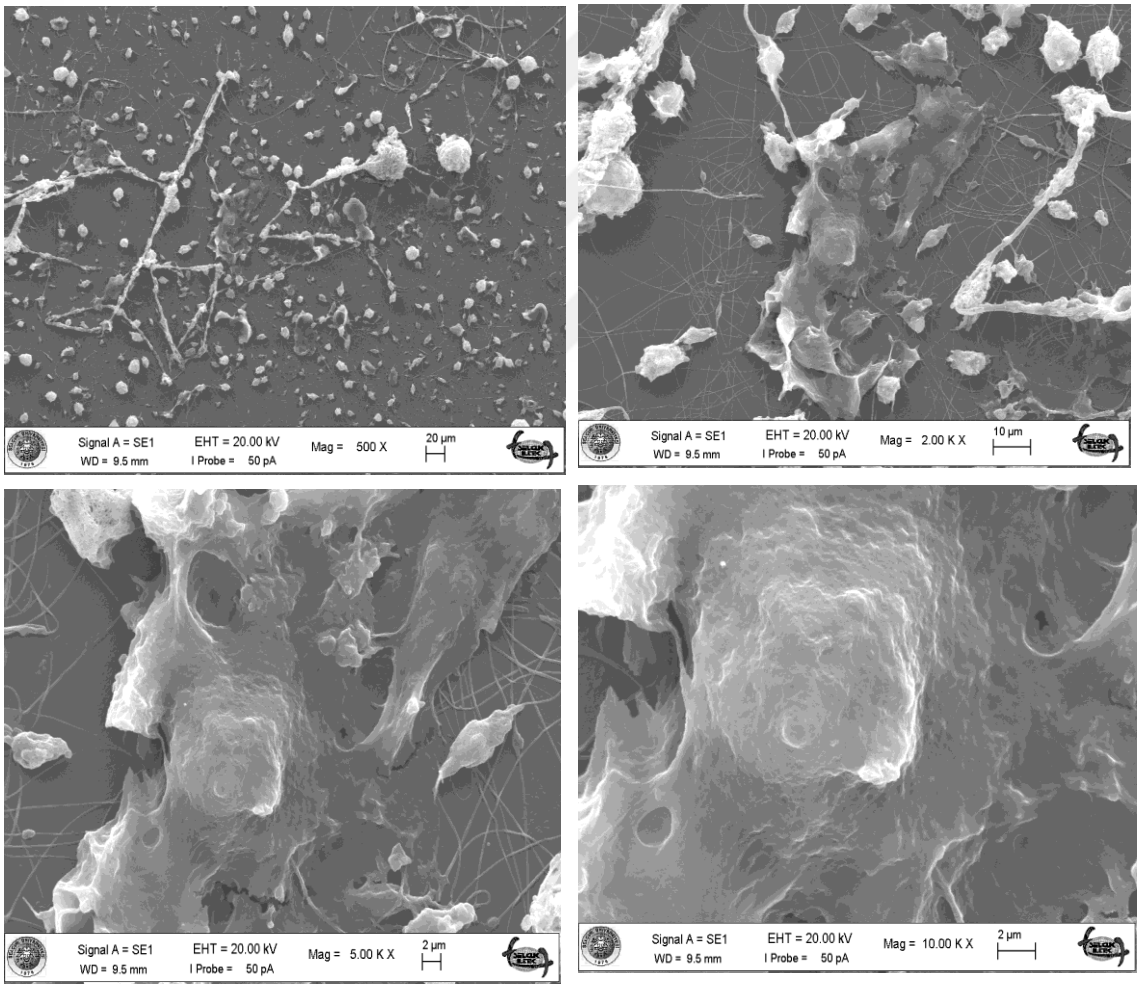




Şekil 4.18.Caco-2 hücresinin nanofiber yüzeyler olan diester de 48 saat boyunca proliferasyonunun taramalı elektron mikroskobu görüntüleri (SEM)

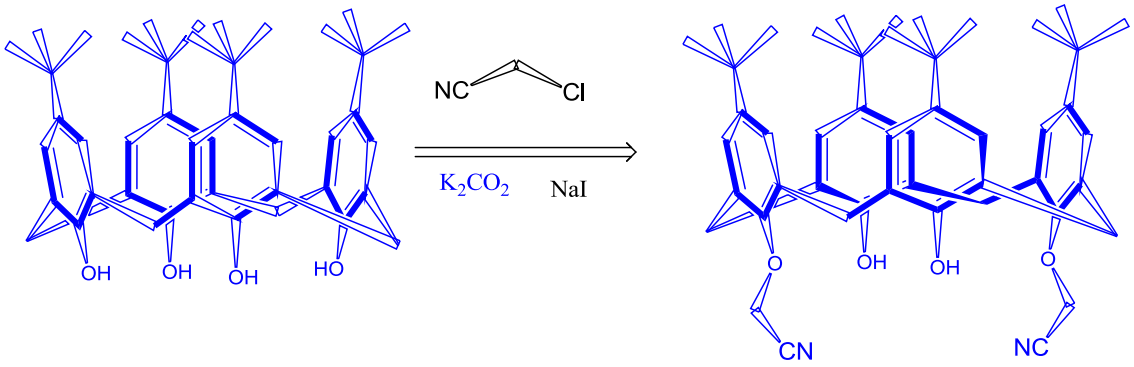
4.10.2. 5,11,17,23-Tetra-ter-bütil-25,27-dihidroksikarboksilik asit- 26,28-dihidroksi kaliks[4]aren

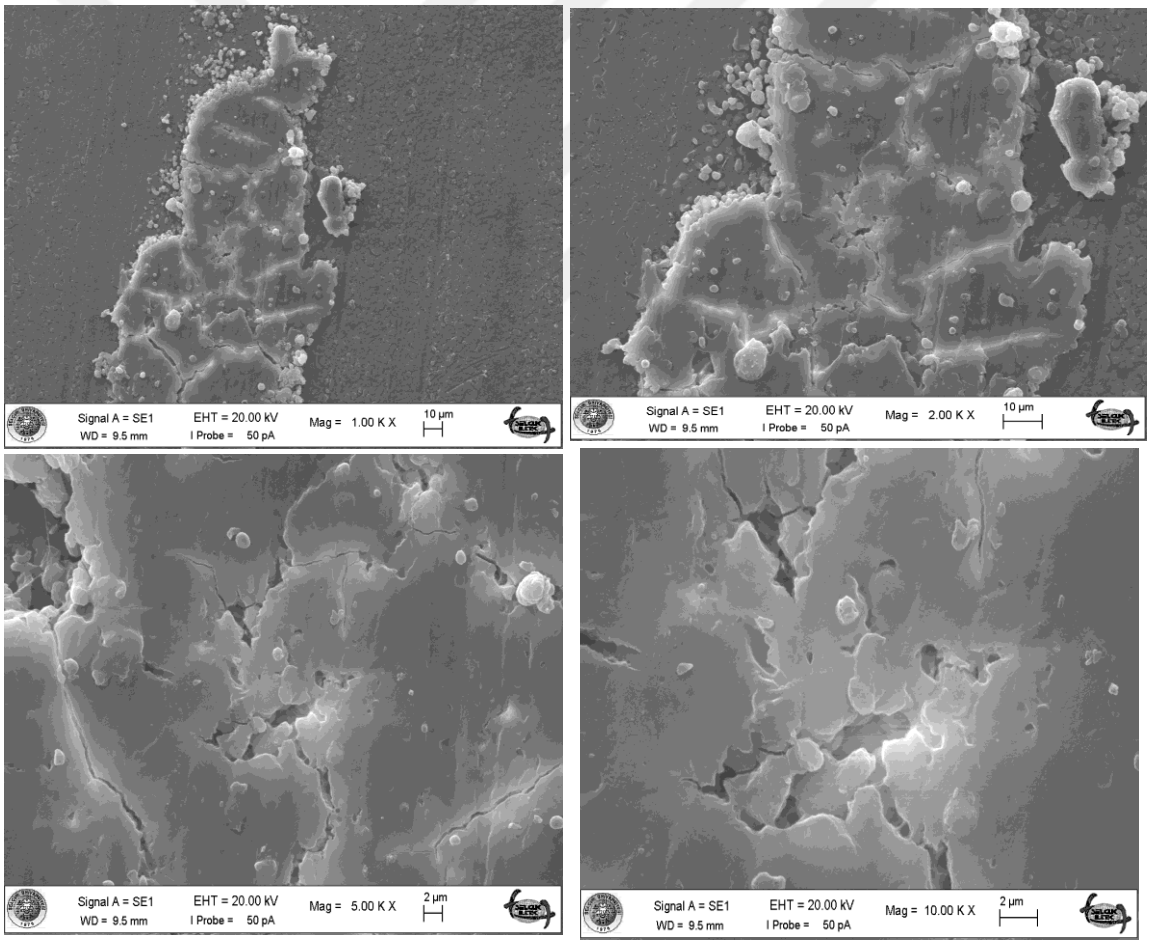




Şekil 4.19.Caco-2 hücresinin nanofiber yüzeyler Karboksilik asit (-COOH)de 48 saat boyunca proliferasyonunun taramalı elektron mikroskobu görüntüleri (SEM)

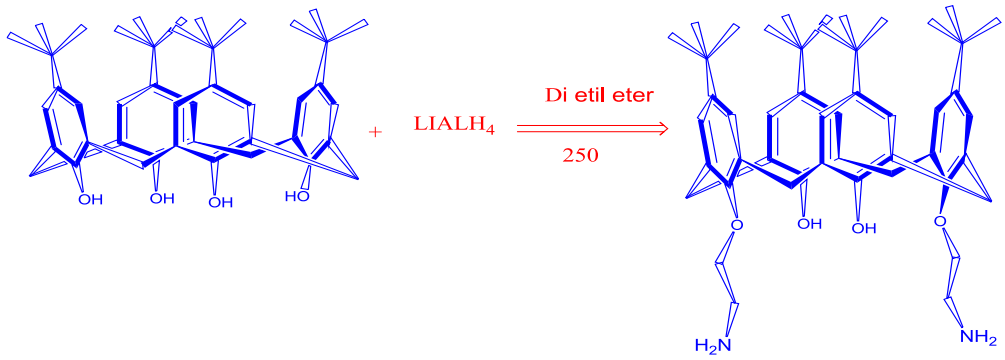
4.10.3.5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-disiyanometoksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren

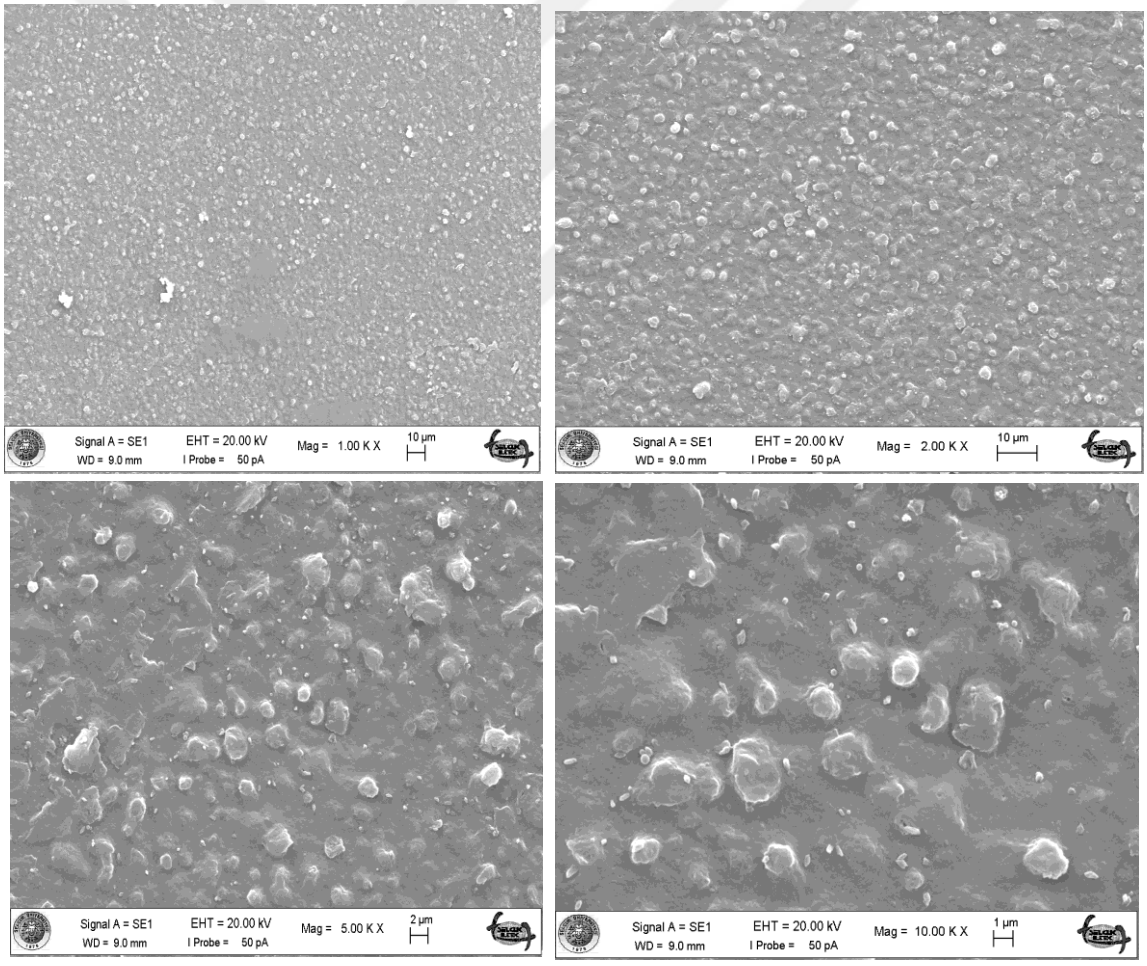




Şekil 4.20. 15x10^4 Caco-2 hücresinin nanofiber yüzeyleri olan Nitril (-CN) de 48 saat boyunca proliferasyonlarının taramalı elektron mikroskobu görüntüleri (SEM)

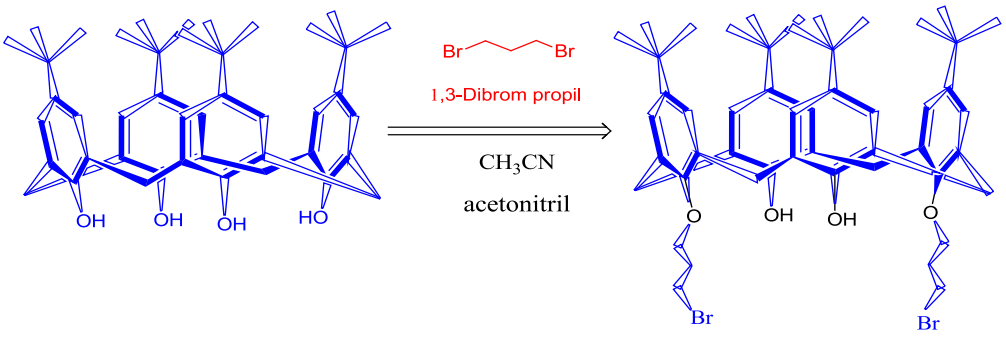
4.10.4.5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-diaminoetoksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren



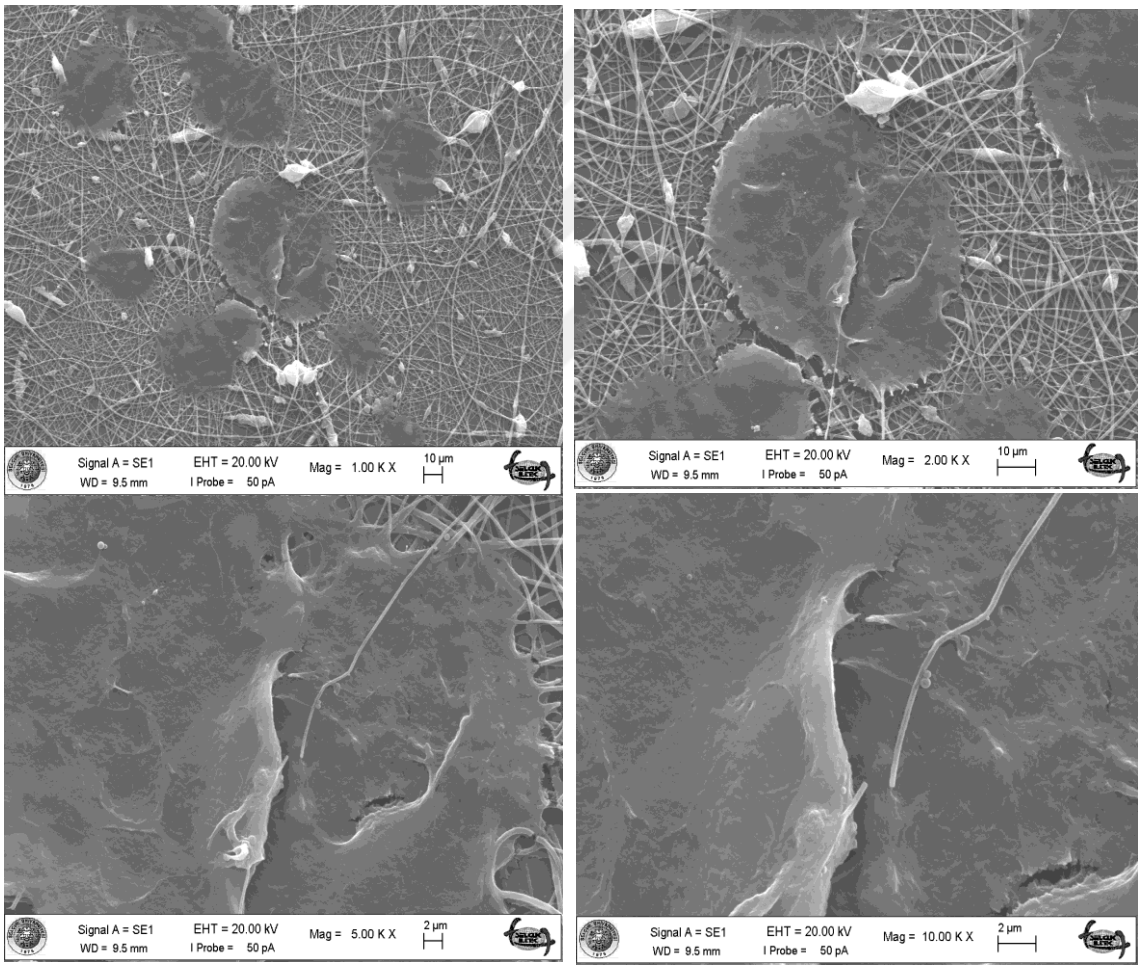


Şekil 4.21.15x10^4 Caco-2 hücresinin nanofiber yüzeyleri olan Amin (-NH_2) de 48 saat boyunca proliferasyonlarının taramalı elektron mikroskobu görüntüleri (SEM)

4.10.5.25,27-Bis(3-bromopropoksi)- 26,28-dihidroksi- 5,11,17,23- tetra (ter-butil) kaliks[4]aren



➢



Şekil 4.22. 15x10^4 Caco-2 hücresinin nanofiber yüzeyleri olan Alkil Bromür (-Br)de 48 saat boyunca proliferasyonlarının taramalı elektron mikroskobu görüntüleri (SEM)

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

- Başlangıç materyali *p-ter*-bütil olan kaliks[4]aren (1)sentezlenen sonra etilbromasetat ile uygun koşullarda reaksiyona sokulur *p-ter*-bütilkaliks[4]aren diester **(2)** bileşiği yapıldı
- Bu bileşik **(2)** asidik ortamda hidroliz edilir *p-ter*-bütilkaliks[4]aren dikarboksilik asit **(3)** bileşiği yapıldı
- Yine *p-ter*-bütilkaliks[4]aren **(1)** bileşği kloroasetonitril bileşiği uygun reaksiyon şartlarında etkileştirilerek *p-ter*-bütilkaliks[4]aren dinitril **(4)** bileşiği kazanılmış oldu.
- **Bileşik 4** indirgenerek *p-ter*-bütil-kaliks[4]aren Diamin **(5)** bileşiği elde edildi.
- Diğer taraftan *p-ter*-bütilkaliks[4]aren **(1)** bileşiği 1-3,dibromopropil ile uygun reaksiyon şartlarında etkileştirilir *p-ter*-bütil-kaliks[4]aren Bis-propilbromür **(6)** bileşiği elde edildi.
- Sentezlenen organik bileşiklerin yapısı spektroskopik teknikler kullanılarak (^{1}H-NMR, FTIR) aydınlatıldı.
- Üretilen Nanofiberlerin yüzey karekterizasyonu SEM analizi ile yapıldı.

- Bu çalışmamızda 24 kuyucuklu plakara yerleştirdiğimiz Nitril (-CN), Amin (-NH_2), Karboksilik asit (-COOH) ve Alkil Bromür (-Br)) taşıyan *p-ter*-bütilkaliks[4]aren nanofiberler üzerinde Caco-2 hücre hattını 24 saat boyunca 3B prolifere etmemiz sonucunda 2B yüzeyele kıyasladığımızda nanofiber yüzeyinde büyümelerin DE'de %60.80, CN %80.80, NH_2'da % 45.79, Br'de %30.29 olduğunu analiz ettik.

- Bu da gösteriyor ki; 3B ortamı sağlayan kaliks[4]aren nanofiber yüzeyler üzerinde çoğalan Caco-2 hücresinin 2B ortama göre daha fazla prolifere olduğudur.

- Ayrıca CN kaliks[4]arenin toz maddesi olarak Caco-2 hücresine sitotoksik etki yaptığını, nanofiber olarak üretilen Nitril'nin ise Caco-2 hücresini prolifere etmede en iyi desteği verdiğidir.

- Caco-2 hücre hattı için Nitril (-CN), Amin (-NH_2), Karboksilik asit (-COOH) ve Alkil Bromür (-Br) taşıyan *p-tert*-bütilkaliks[4]aren nanofiberler de 3B hücre kültürleri için ideal platformlar oluşturmaktadırlar.

- Bunun içerisinde Caco-2 hücresinin en benimsediği Nitril (-CN)tir.

- Hücre canlılığını arttırmaktadır.

- Çünkü Nitril (-CN) hücrenin ECM matrisine benzer bir ortam oluşturmasına izin vermiştir

5.2 Öneriler

Nanofiberler geniş yüzey alanına sahip, hafif ve gözenekli bir yapıya sahip işlevsellik ve mekanik dayanımı yüksek olan yeni nesil malzemelerdir. Nanofiber membranlar; filtrasyon, doku mühendisliği, sensör yapımı, koruyucu maske ve kıyafet yapımı, ilaç salınımı, katalizör desteği, yara kapatıcı, polimerik piller ve kompozit destekleyicisi olarak birçok alanda uygulama bulmaktadır

Nitril (-CN), Amin ($-NH_2$), Karboksilik asit (-COOH) ve Alkil Bromür (-Br) taşıyan *p-ter*-bütilkaliks[4]aren nanofiberlerinin saf olarak çekilmesi yeni ve özgün bir çalışmadır.bu nanofiberlerin caco-2 kolon kanser hücre hattında uygullanması ;nanoteknoloji ilaç tarama sistemi ve hücre kültürü çalışmaları açısından değerlidir.

KAYNAKLAR

Akdemir, B., Güneş, S. and Genç, A., 2009, Artificial neural network training models in prediction of concrete compressive strength using euclidean normalization method, *3rd Int. Conf. on Complex Systems and Applications-ICCSA 2009*, Le Havre-France, 160-165.

ARTUK, C., Cem, G. ve Coskun, Ö., 2013, Human Papilloma Virüs (HPV) Aşılamasına Güncel Bakış, *TAF Preventive Medicine Bulletin*, 12 (3).

Anonim, 2006, Tarım istatistikleri özeti, DİE Yayınları, No;12, Ankara, 22-23.

Anonymous, 1989, Farm accountancy data network, an A-Z of methodology" Commission Report of the EC, Brussels, 16-19.

Aktaş, M., 2015, L-prolin grubu taşıyan kaliks [4] aren türevlerinin sentezi ve organokatalizör olarak enantiyoseçici aldol tepkimelerinde kullanılması, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Aleksiuk, O., Cohen, S. ve Biali, S. E., 1995, Selective hydroxyl replacement in calixarenes: amino-, azo-, and xanthenocalixarene derivatives, *Journal of the American Chemical Society*, 117 (38), 9645-9652.

Applewhite, M., 2012, A study towards the synthesis of dithiadiazolyl functionalised calix [4] arenes, *Stellenbosch: Stellenbosch University*.

Arduini, A., Pochini, A., Rizzi, A., Sicuri, A. ve Ungaro, R., 1990, A novel synthesis of p-phenylcalix [4] arenes via tetraiodo derivatives, *Tetrahedron Letters*, 31 (32), 4653-4656.

Bayrakcı, M., Özcan, F. ve Ertul, Ş., 2015, Synthesis of calixamide nanofibers by electrospinning and toxic anion binding to the fiber structures, *Tetrahedron*, 71 (21), 3404-3410.

Boehmer, V., Marschollek, F. ve Zetta, L., 1987, Calix [4] arenes with four differently substituted phenolic units, *The Journal of Organic Chemistry*, 52 (15), 3200-3205.

Cameron, B. R. ve Loeb, S. J., 1997, Bis (amido) calix [4] arenes in the pinched cone conformation astuneable hydrogen-bonding anion receptors, *Chemical Communications* (6), 573-574.

Chawla, H., Pant, N., Srivastava, B. ve Upreti, S., 2006, Convenient Direct Synthesis of Bisformylated Calix [4] arenes via I pso Substitution, *Organic letters*, 8 (11), 2237-2240.

Cornforth, J., Hart, P. A., Nicholls, G., Rees, R. ve Stock, J., 1955, Antituberculous effects of certain surface-active polyoxyethylene ethers, *British journal of pharmacology*, 10 (1), 73-86.

Çınar, E., 2013, Elektro-eğirme yöntemiyle bor katkılı Bi2M3Co2 oksit,(M= Sr, Ca, Ba) termoelektrik nanokompozit üretimi ve karakterizasyonu, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Çıracı, B., 2005, Bilkent Ulusal Nanoteknoloji Araştırma Merkezi, *Bilim ve Teknik, Yeni Ufuklara eki* (453), 4-5.

Dinç, H., 2013, Polivinil borat sentezin; elektrospin yöntemiyle nanofiber hazırlanması ve karakterizasyonu, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Drexler, K. E., 1986, Engines of Creation, Anchor, *Garden City, New York*.

Dzenis, Y., 2004, Spinning continuous fibers for nanotechnology, *Science*, 304 (5679), 1917-1919.

Gao, X., Cui, Y., Levenson, R. M., Chung, L. W. ve Nie, S., 2004, In vivo cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots, *Nature biotechnology*, 22 (8), 969.

Gibbs, C. G., Sujeeth, P., Rogers, J. S., Stanley, G. G., Krawiec, M., Watson, W. H. ve Gutsche, C. D., 1995, Syntheses and Conformations of the p-tert-Butylcalix [4] arenethiols, *The Journal of Organic Chemistry*, 60 (26), 8394-8402.

Gutsche, C., 1989a, CalixarenesRoyal Society of Chemistry, Cambridge.

Gutsche, C., 1989b, Calixarenes (Monographs in Supramolecular Chemistry) Royal Society of Chemistry, *London*.

Gutsche, C., 1989c, Monograph in Supramolecular Chemistry: Calixarenes, *Royal Society of London*.

Gutsche, C. D. ve Lin, L.-G., 1986, Calixarenes 12: the synthesis of functionalized calixarenes, *Tetrahedron*, 42 (6), 1633-1640.

Gutsche, C. D. ve Iqbal, M., 1990, p-tert-Butylcalix [4] arene, *Organic Syntheses*, 234-234.

Gutsche, C. D., 1991, Single Step Synthesis and Properties of Calixarenes, In: Calixarenes: A Versatile Class of Macrocyclic Compounds, Eds: Springer, p. 3-37.

Kaestner, M. ve Rangelow, I., 2012, Scanning probe nanolithography on calixarene, *Microelectronic Engineering*, 97, 96-99.

Li, D. ve Xia, Y., 2004, Electrospinning of nanofibers: reinventing the wheel?, *Advanced materials*, 16 (14), 1151-1170.

MEHTA, M. ve HUNT, G., 2006, Nanotechnology: risk, ethics and law, *Londres: Earthscan*.

Morzherin, Y., Rudkevich, D. M., Verboom, W. ve Reinhoudt, D. N., 1993, Chlorosulfonylated calix [4] arenes: precursors for neutral anion receptors with a selectivity for hydrogen sulfate, *The Journal of Organic Chemistry*, 58 (26), 7602-7605.

Mason, J., 1832, Map of the countries lying between Spain and India, 1:8.000.000, London: Ordnance Survey.

Nagasaki, T., Tajiri, Y. ve Shinkai, S., 1993, New water-soluble calixarenes modified with amino acids at the upper rim, *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*, 112 (6), 407-411.

Okur, S., Kuş, M., Özel, F., Aybek, V. ve Yılmaz, M., 2010, Humidity adsorption kinetics of calix [4] arene derivatives measured using QCM technique, *Talanta*, 81 (1-2), 248-251.

Ozcan, F., Ersoz, M. ve Yilmaz, M., 2009a, Preparation and application of calix [4] arene-grafted magnetite nanoparticles for removal of dichromate anions, *Materials Science and Engineering: C*, 29 (8), 2378-2383.

Ozcan, F., Sahin, O. ve Yilmaz, M., 2009b, Synthesis of a glutaraldehyde derivative of calix [4] arene as a cross-linker reagent for lipase immobilization, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 63 (1-2), 123-129.

Özbay, Y., 1999, EKG aritmilerini hızlı tanıma, Doktora Tezi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Konya, 10-15.

Reya, T., Morrison, S. J., Clarke, M. F. ve Weissman, I. L., 2001, Stem cells, cancer, and cancer stem cells, *nature*, 414 (6859), 105.

Seeram, R., Teik-cheng, L. ve Kazutoshi, F., 2005, An introduction to electrospinning and nanofibers, World scientific, p.

Shinkai, S., Mori, S., Koreishi, H., Tsubaki, T. ve Manabe, O., 1986, Hexasulfonated calix [6] arene derivatives: a new class of catalysts, surfactants, and host molecules, *Journal of the American Chemical Society*, 108 (9), 2409-2416.

Shinkai, S., Araki, K., Shibata, J., Tsugawa, D. ve Manabe, O., 1989, Diazo-Coupling Reactions with Calix [4] arene. p K a Determination with Chromophoric Azocalix [4] arenes, *Chemistry Letters*, 18 (6), 931-934.

Shinkai, S., Araki, K., Grootenhuis, P. D. ve Reinhoudt, D. N., 1991, p K a determination of water-soluble calix [4] arenes, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2* (12), 1883-1886.

Süslü, A., 2009, Elektro-eğirme yöntemi ile nanofiber ve nanotüp üretimi, *DEÜ Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Takeshita, 1995, 443.

Ting, Y., Verboom, W., Groenen, L. C., van Loon, J.-D. ve Reinhoudt, D. N., 1990, Selectively dehydroxylated calix [4] arenes and 1, 3-dithiocalix [4] arenes; novel classes of calix [4] arenes, *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* (20), 1432-1433.

Van Gelder, J. M., Aleksiuk, O. ve Biali, S. E., 1996, Preparation and Conformation of Monohalotetrahydroxycalix [5] arenes, *The Journal of Organic Chemistry*, 61 (24), 8419-8424.

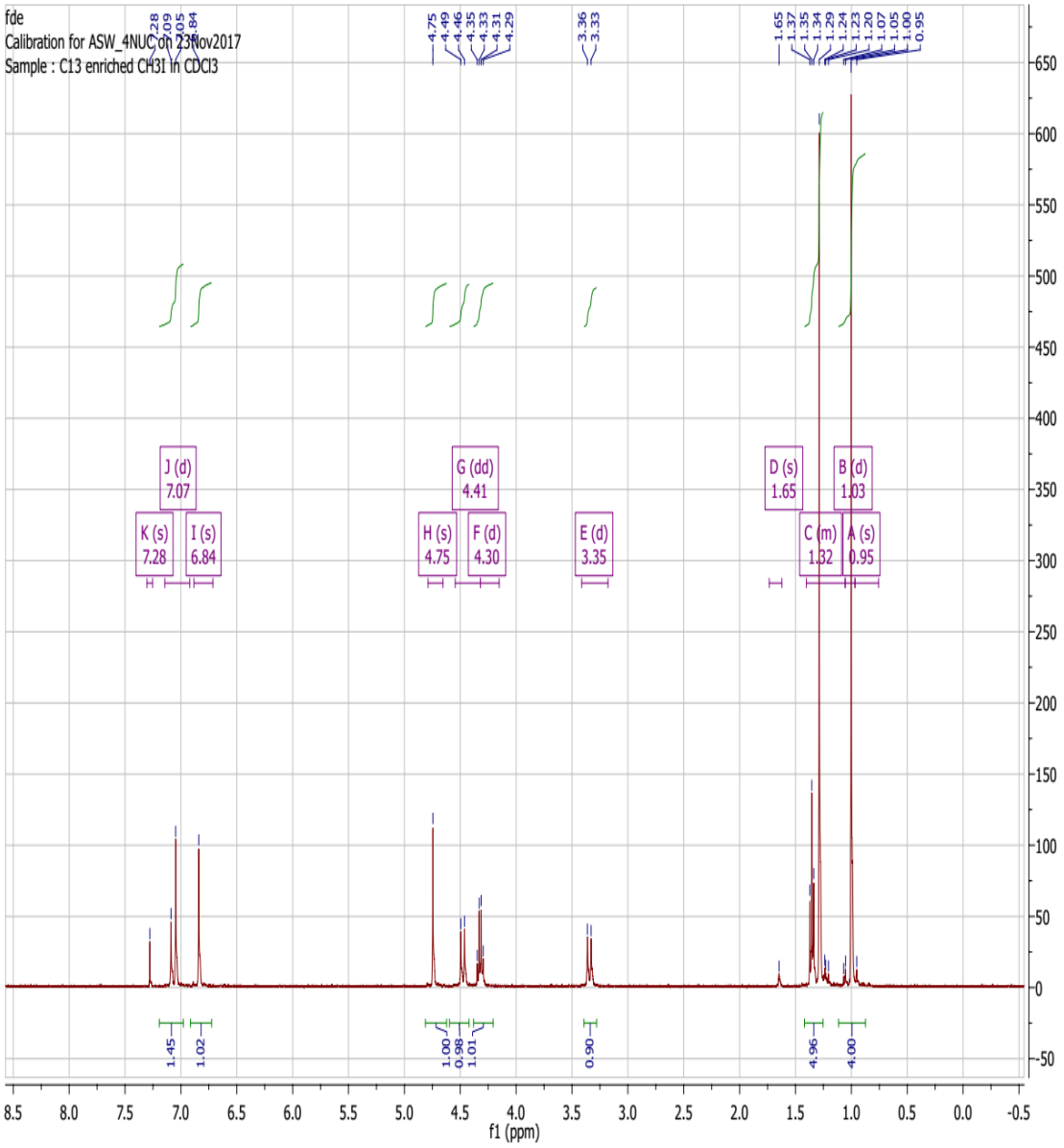
Verhoeckx, K., Cotter, P., López-Expósito, I., Kleiveland, C., Lea, T., Mackie, A., Requena, T., Swiatecka, D. ve Wichers, H., 2015, The Impact of Food Bioactives on Health: in vitro and ex vivo models, Springer, p.

Yu, M. K., Jeong, Y. Y., Park, J., Park, S., Kim, J. W., Min, J. J., Kim, K. ve Jon, S., 2008, Drug-loaded superparamagnetic iron oxide nanoparticles for combined cancer imaging and therapy in vivo, *Angewandte Chemie*, 120 (29), 5442-5445.

EKLER

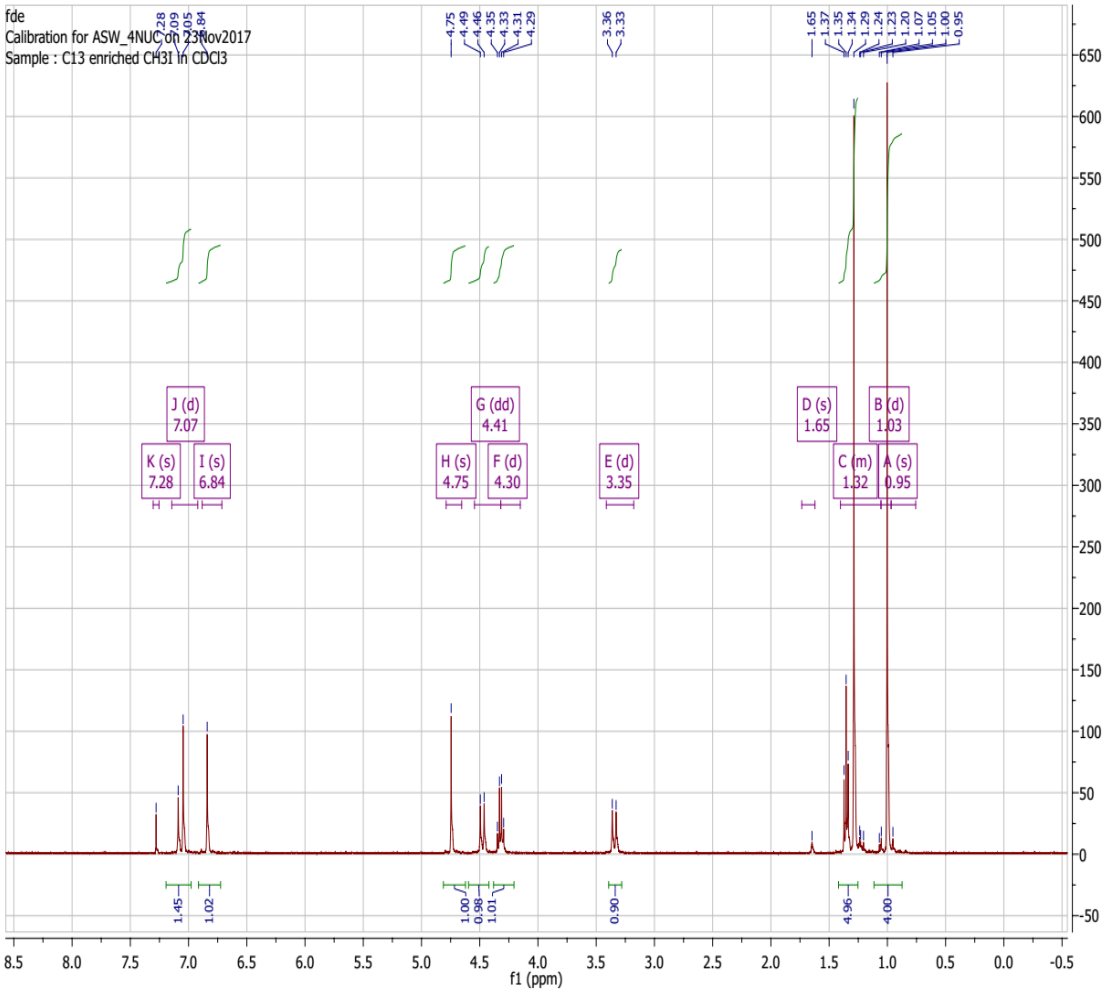
EK-1

5,11,17,23-Tetra-ter-bütil-25,27-dietoksikarbonilmetoksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren ^{1}HNMR sonuçlar



EK-2

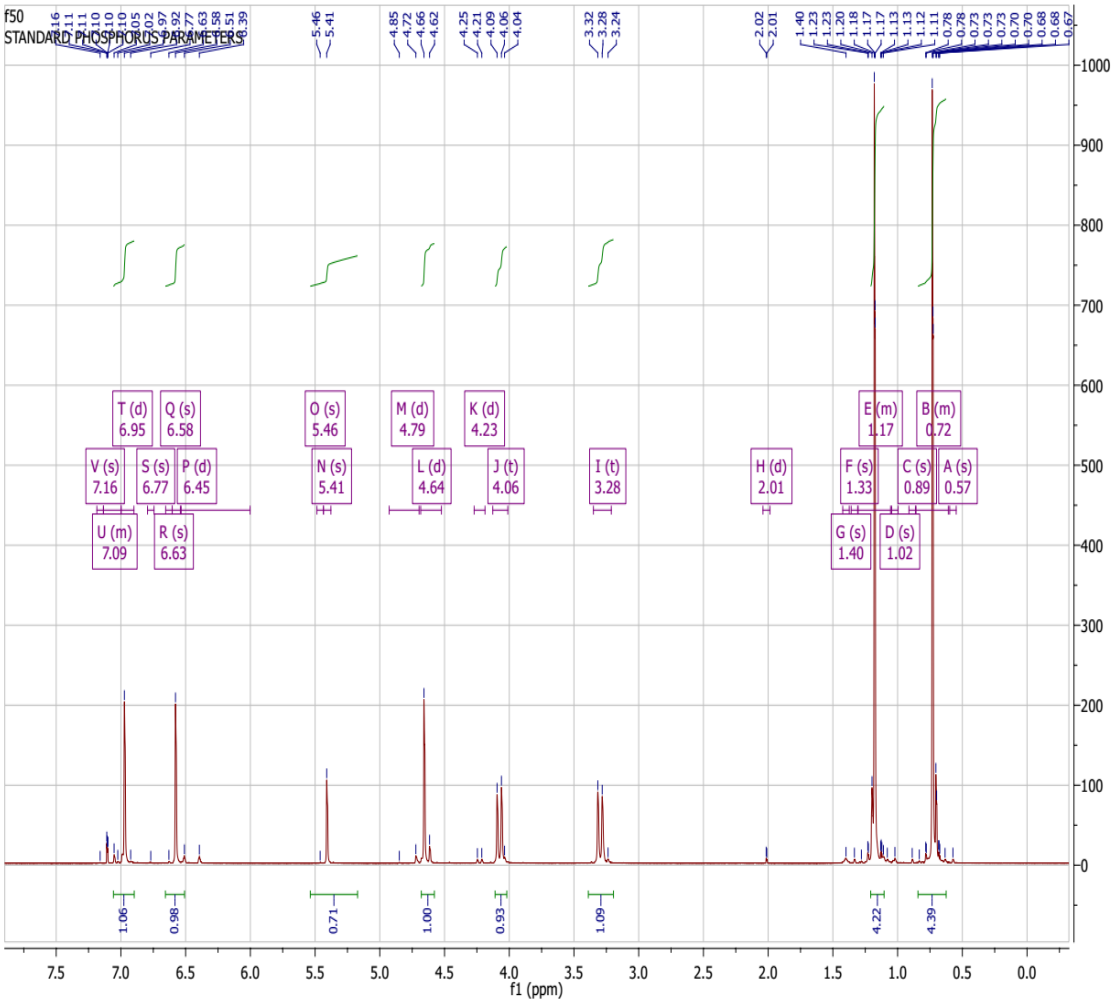
25,11,17,23-Tetra-ter-bütil-25,27-dihidroksikarboksilik asit- 26,28-dihidroksi kaliks[4]aren ^{1}HNMR sonuçlar



EK-3

5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-disiyanometoksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren

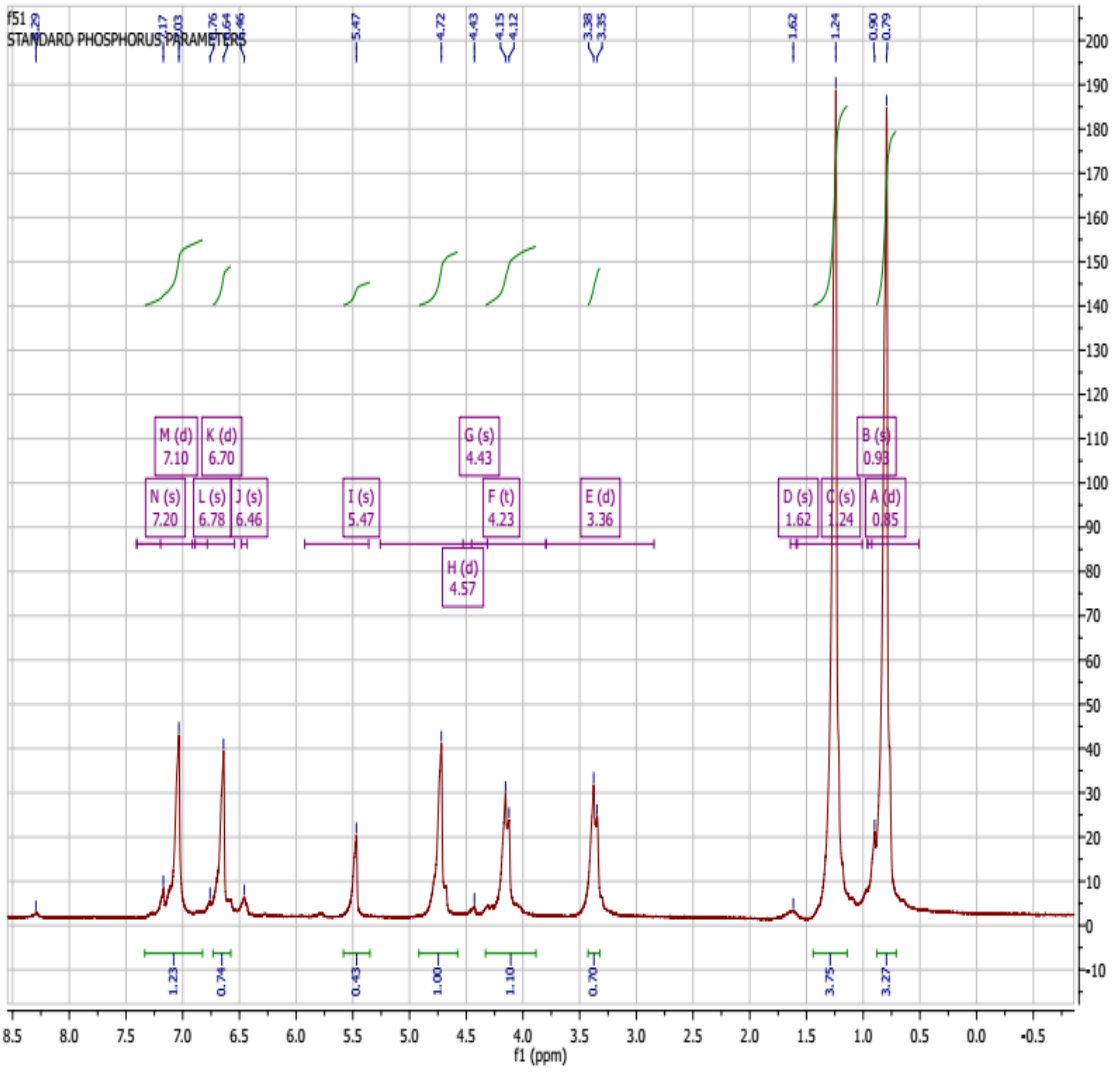
^{1}HNMR sonuçlar



EK-4

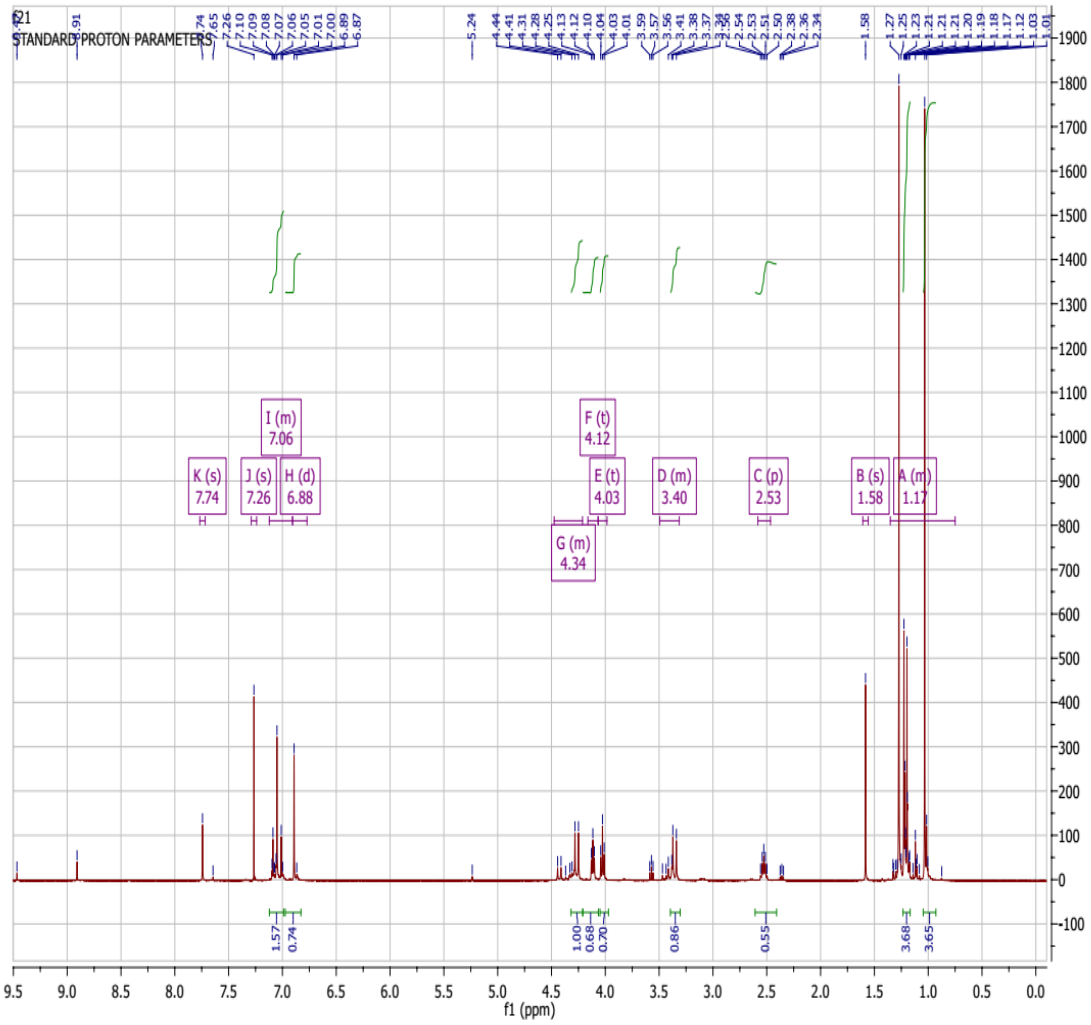
5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-diaminoetoksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren

^{1}HNMR sonuçlar



EK-5

5,11,17,23- tetra-ter-bütil- 25,27-Bis(3-bromopropoksi)- 26,28-dihidroksi- -butil) kaliks[4]aren ^{1}HNMR sonuçlar



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Mohammed farman ahmed AHMED
Uyruğu : IRAK
Doğum Yeri ve Tarihi : IRAK ,17/03/1992
Telefon : 05346356519
Faks :
e-mail : ma254609@gmail.com

EĞİTİM

Derece	**Adı, İlçe, İl**	**Bitirme Yılı**
Lise :	Makarem erkek lisesi	
Üniversite :	Tikrit üniversitesi kimya bölümü	
Yüksek Lisans :	Selçuk üniversitesi ileri teknoloji araştırma ve uygulama merkezi ,nanoteknoloji anabilim dalı Selçuklu /konya	
Doktora :		

Deneyim

- **2017 -2018** yeni tipte kaliksarenlerin sentezi ve özelliklerin incelenmesi selçuk üniversitesi organic kimya laboratuvarı

UZMANLIK ALANI

- Organik sentez
- Nanofiber üretimi

YABANCI DİLLER

- Arabça
- Türkçe
- Ingilizce

Katıldığı kongre ve seminerler

- 12-14 Mayıs 2017 – 22. Uluslar Arası Biyomedikal Bilim ve Teknoloji Sempozyumu (Poster Sunumu)
- 26 -28 Ekim 2017 - 4 Uluslar arası Türk –Pak kimyasal Bilimleri Konferensı (ITPCCS 2017)